



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Físicas

Unidad de Posgrado

**Estudio y caracterización de arcillas modificadas para
el uso de adsorción de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2.**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Física con
mención en Física del Estado Sólido

AUTOR

Yezeña HUAYPAR VÁSQUEZ

ASESOR

Dr. Jorge Aurelio BRAVO CABREJOS

Lima, Perú

2018



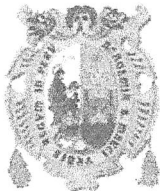
Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Huaypar, Y. (2018). *Estudio y caracterización de arcillas modificadas para el uso de adsorción de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2*. [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas / Unidad de Posgrado]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
Vicedecanato de Investigación y Posgrado

UNIDAD DE POSGRADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE
MAGÍSTER EN FÍSICA CON MENCIÓN EN FÍSICA DEL ESTADO SÓLIDO

A los veintiocho días del mes de junio del año dos mil dieciocho, siendo las diez de la mañana, se reunió el Jurado Examinador, en el auditorio 304 de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, presidido por el señor Dr. Eusebio Torres Tapia como presidente, y con la asistencia de los siguientes miembros del Jurado Examinador:

Dr. Eusebio Torres Tapia	(Presidente)
Mg. Daniel Lovera Dávila	(Miembro integrante)
Dra. Elvira Zevallos Velásquez	(Miembro integrante)
Dr. Justiniano Quispe Marcatoma	(Miembro integrante)
Mg. José Medina Medina	(Suplente)
Dr. Jorge Bravo Cabrejos	(Asesor)

Para la sustentación oral y pública del trabajo de Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Física con mención en Física del Estado Sólido, de la bachiller **Yezeña Huaypar Vásquez** con código N° 02137002.

Después de darse lectura al expediente de Grado en el que consta haberse cumplido con todas las disposiciones reglamentarias, los señores Miembros del Jurado Examinador, atendieron a la exposición de la Tesis titulada:

"Estudio y Caracterización de Arcillas Modificadas para el uso de adsorción de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂"

Y formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

Acto seguido, en privado, el Jurado Examinador procedió a la calificación. El Presidente determinó el promedio de la calificación, obteniendo como resultado de:



Diecisiete (17) Muy bueno

A continuación el Presidente del Jurado Examinador recomienda que la Facultad de Ciencias Físicas proponga que se le otorgue el Grado Académico de Magíster en Física con mención en Física del Estado Sólido, a la bachiller **Yezeña Huaypar Vásquez**.

Siendo las *12:05 horas*, se levantó la sesión; recibiendo el graduando las felicitaciones de los señores Miembros del Jurado Examinador y público asistente.

Los Miembros del Jurado Examinador suscriben el Acta de sustentación de tesis en Lima, a los veintiocho días del mes de junio del año dos mil dieciocho.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
UNIDAD DE POSGRADO

Lima, 28 de junio de 2018

... Acta de sustentación de Tesis de la Bach. Yezeña Huaypar Vásquez....

Dr. Eusebio Torres Tapia
Presidente

Mg. Daniel Lovera Davila
Miembro integrante

Dra. Elvira Zevallos Velásquez
Miembro integrante

Dr. Justiniano Quispe Marcatoma
Miembro integrante

Mg. José Medina Medina
Miembro integrante (suplente)

Dr. Jorge Bravo Cabrejos
Asesor

AGRADECIMIENTOS

Con especial admiración y estima al Dr. Jorge Bravo Cabrejos y al Dr. Abel Gutarra Espinoza por otorgarme generosamente las oportunidades, herramientas y enseñanzas para el desarrollo de esta investigación.

A Erika Gabriel por compartir sus experiencias de trabajo, viaje de entrenamiento y su valiosa amistad.

Al laboratorio de Ciencia de Materiales de la Facultad de Ciencias – UNI por permitir el desarrollo experimental en la modificación de los materiales.

Al Laboratorio de Análisis de Suelos, Arqueometría y Rayos X de la Facultad de Ciencias Físicas - UNMSM por permitirme desarrollar las mediciones en la evaluación de las muestras.

A Mirian, María Luisa y Alejandro por ser los mejores amigos y compañeros, brindándome su apoyo incondicional.

Al CONCYTEC por la subvención como becaria de investigación.

A

Celia y Mariano

Cromwell y Alejandra

INDICE GENERAL

	Página
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
CAPITULO 1	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Los minerales de arcilla y su ocurrencia. Selección de muestras.	3
1.2 Modificación fisicoquímica de las arcillas.	10
1.3 Las esmectitas como adsorbentes de Aflatoxinas.	12
CAPITULO 2.....	16
TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPLEADAS	16
2.1 Difracción de Rayos X.....	16
2.1.1 Principios básicos.....	16
2.1.2 Procedimiento experimental	21
2.2 Espectroscopía Mössbauer.....	23
2.2.1 Principios básicos.....	23
2.2.2 Procedimiento experimental	33
2.3 Espectroscopia Infrarrojo con Transformada de Fourier	34
2.3.1 Principios básicos.....	34
2.3.2 Procedimiento experimental	35
2.4 Microscopia electrónica de barrido	36
2.4.1 Principios básicos.....	36
2.4.2 Procedimiento experimental	36

2.5 Ensayo Inmuno-sorbente Ligado a Enzimas (ELISA).....	37
2.5.1 Principios básicos.....	37
CAPITULO 3	40
RESULTADOS EXPERIMENTALES	40
3.1 Resultados de los análisis de difracción de rayos X	40
3.2 Resultados de los análisis por espectroscopia Mössbauer	44
3.3 Resultados de los análisis por espectroscopia infrarroja	51
3.4 Resultados de los análisis de la microscopía electrónica de barrido.	55
3.5 Resultados de los ensayos de absorción atómica.	59
3.6 Resultados de la adsorción de aflatoxinas por el ensayo de ELISA.	62
CAPITULO 4	67
DISCUSION DE RESULTADOS	67
CONCLUSIONES	69
RECOMENDACIONES	71
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXO	75

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de los minerales de arcilla

Tabla 2. Clasificación de las esmectitas.

Tabla 3. Grupos de muestras y su condición de tratamiento.

Tabla 4. Características químicas de las Aflatoxinas.

Tabla 5. Parámetros hiperfinos de la muestra IC con y sin activación ácida a TA.

Tabla 6. Parámetros hiperfinos para la muestra HU con y sin activación ácida a TA.

Tabla 7. Parámetros hiperfinos para la muestra EU con y sin activación ácida a TA.

Tabla 8: Resumen de las bandas características encontradas en las arcillas.

Tabla 9. Resultados de los ensayos de AA para la muestra HU

Tabla 10. Resultados de los ensayos de AA para la muestra IC

Tabla 11. Resultados de los ensayos de AA para la muestra EU

Tabla 12. Resultados de la adsorción de Aflatoxinas en las muestras de arcilla HU sobre muestras control.

Tabla 13. Resultados de la adsorción de Aflatoxinas en las muestras de arcilla IC sobre muestras control.

Tabla 14. Resultados de la adsorción de Aflatoxinas en las muestras de arcilla EU sobre muestras control.

Tabla 15. Resultados de adsorción de Aflatoxinas en maíz contaminado sobre las arcillas IC, HU y EU.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Unidad tetraedral (izquierda) y octaedral (derecha) constituyentes de las arcillas.

Figura 2. Estructura básica de los filosilicatos tipo 1:1 (arriba) y 2:1 (abajo)

Figura 3. Representación de la capa octaédrica de una arcilla tipo dioctaedral (izquierda) y trioctaedral (derecha). Los círculos en blanco representan grupos OH.

Figura 4. Proyección de la lámina octaédrica en filosilicatos tipo 2:1. Estructura “vacante en cis” (izquierda) y “vacante en trans” (derecha)

Figura 5. Esquema de los componentes de la estructura de una esmectita.

Figura 6. Esquema del proceso de activación ácida.

Figura 7. Representación de la estructura molecular de la Aflatoxina: AfB1 (izquierda) y AfB2 (derecha).

Figura 8. Representación de la estructura molecular de la Aflatoxina: AfG1 (izquierda) y AfG2 (derecha).

Figura 9. Representación de la radiación continua y característica de rayos X.

Figura 10. Representación de planos por los índices de Miller

Figura 11. Esquema de la celda unidad de la esmectita.

Figura 12. Representación del Modelo de Bragg.

Figura 13. Representación de la geometría de Bragg-Brentano.

Figura 14. Representación del corrimiento isomérico de los niveles de energía en los átomos del emisor y absorbente.

Figura 15. Representación del desdoblamiento de los niveles nucleares del ^{57}Fe debido a la interacción cuadrupolar.

Figura 16. Representación del desdoblamiento magnético de los niveles nucleares del ^{57}Fe .

Figura 17. Representación del análisis de micotoxinas por ELISA.

Figura 18. Difractogramas de las muestras IC, HU y EU sin modificación.

Figura 19. Difractogramas comparativos de la muestra IC con tratamientos ácidos. (a) difractogramas en rango completo, (b) difractogramas ampliados de 4° a 10° (2 theta).

Figura 20. Difractogramas comparativos de la muestra HU con tratamientos ácidos. (a) difractogramas en rango completo, (b) difractogramas ampliados de 4° a 10° (2 theta).

Figura 21. Difractogramas comparativos de la muestra EU con tratamientos ácidos. (a) difractogramas en rango completo, (b) difractogramas ampliados de 4° a 10° (2 theta).

Figura 22. Espectro Mössbauer de la muestra IC sin activación ácida.

Figura 23. Espectro Mössbauer de la muestra IC con activación ácida a 8N 2h pH3.

Figura 24. Espectro Mössbauer de la muestra HU sin activación ácida.

Figura 25. Espectro Mössbauer de la muestra HU con activación ácida a 8N 2h pH3.

Figura 26. Espectro Mössbauer de la muestra EU sin activación ácida.

Figura 27. Secuencia de espectros Mössbauer de la muestra EU a diferentes concentraciones de activación ácida.

Figure 28. Curva representativa del área de absorción resonante relativa para el sitio Fe versus la concentración del tratamiento ácido para la muestra EU.

Figura 29. Comparativo de espectros IR de las muestras de arcilla IC, HU y EU sin tratamiento ácido.

Figura 30. Espectros IR de la muestra de arcilla IC sin y con tratamiento ácido.

Figura 31. Espectros IR de la muestra de arcilla HU sin y con tratamiento ácido.

Figura 32. Espectros IR de la muestra de arcilla EU sin y con tratamiento ácido.

Figura 33. Vista panorámica de la muestra IC con escala de medición de 200 μm .

Figura 34. Imagen de morfología laminar en la muestra IC con escala de medición de 20 μm y aumento 1000X.

Figura 35. Espectro EDS y análisis elemental puntual de la muestra IC.

Figura 36. Imagen de morfología de agregado y laminar en la muestra HU con escala de medición de 200 μm y aumento 200X.

Figura 37. Espectro EDS y análisis elemental puntual de la muestra HU.

Figura 38. Imagen de morfología de agregados en la muestra EU con escala de medición de 40 μm aumento 800X.

Figura 39. Espectro EDS y análisis elemental puntual de la muestra EU.

Figura 40. Gráficas comparativas de la evaluación química por AA de la muestra (a) arcilla IC, (b) arcilla HU y arcilla EU sin y con tratamiento de modificación ácida.

Figura 41. Gráficas comparativas de la evaluación de adsorción de Aflatoxinas para la muestra (arriba) arcilla IC, (centro) arcilla HU y (abajo) arcilla EU sobre las muestras control a diferentes concentraciones.

Figura 42. Gráfica comparativa de la evaluación de adsorción de Aflatoxinas para la muestra IC, HU y EU sobre maíz contaminado a concentración de 80 ppb.

RESUMEN

La presente tesis muestra el estudio y caracterización de tres arcillas tipo esmectita, usadas como adsorbentes de micotoxinas tipo Aflatoxinas (B_1 , B_2 , G_1 y G_2), en su forma natural y bajo el proceso de modificación química. Se ha realizado el seguimiento a los cambios estructurales en las arcillas provocados por la modificación química, evaluando así en cada una de las etapas su capacidad de adsorción de Aflatoxinas. Finalmente, se definen los parámetros del proceso y características de las arcillas modificadas mediante las cuales se optimiza la adsorción de las Aflatoxinas.

La evaluación de las arcillas y seguimiento de los cambios estructurales fueron realizadas por las técnicas de difracción de rayos X, espectroscopía Mössbauer, espectroscopía Infrarroja y absorción atómica. Para la evaluación de adsorción de aflatoxinas se empleó la técnica de Ensayo Inmuno-sorbente Ligado a Enzimas.

Las arcillas evaluadas en su forma natural están compuestas mayoritariamente por la arcilla montmorillonita y en menor proporción por cuarzo y cristobalita. Dentro de los cambios más relevantes bajo la modificación química, observados por las diferentes técnicas, podemos mencionar:

- Para las tres arcillas, las intensidades de las vibraciones en los enlaces (OH-Mg, Al) y (OH-Al) de los sitios octaédricos disminuyen a medida que se incrementa la concentración ácida en la modificación química.
- Por espectroscopía Mössbauer se verificó que, durante la modificación ácida, los sitios de Fe^{2+} en la estructura de las arcillas están siendo oxidados a Fe^{3+} .
- Por difracción de rayos X se distinguió la expansión de la estructura de la arcilla, verificado por el aumento de la distancia interplanar del plano de reflexión (0 0 1), y su parcial disolución a medida que la concentración en el proceso de la modificación ácida se incrementa.
- La prueba de adsorción de aflatoxinas nos indica que en algunos casos el tratamiento ácido en la arcilla puede mejorar la capacidad de adsorción y en otros casos no. Este comportamiento estaría condicionado a la composición química y estructural de la arcilla.
- Los cambios más drásticos en la estructura de las arcillas, así como el mayor porcentaje en la adsorción de Aflatoxinas fueron obtenidos con el tratamiento ácido a una concentración 2N.

ABSTRACT

This thesis deals with the study and characterization of three smectite clays, used as adsorbents of mycotoxins type Aflatoxin (B1, B2, G1 and G2), in their natural form and under the process of chemical modification. The structural changes in these clays and their adsorption capacity of Aflatoxins caused by the chemical modification process have been monitored at each stage. Finally, the parameters of the process and characteristics of the modified clays are defined by means of which the adsorption of Aflatoxins is optimized.

The clay evaluation and monitoring of their structural changes were made by X ray diffractometry, Mössbauer spectroscopy, infrared spectroscopy and atomic absorption techniques. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique was used for the evaluation of Aflatoxins adsorption.

The clays evaluated in their natural form are composed mainly of montmorillonite clay and in minor presence are quartz and cristobalite.

Among the most relevant changes under chemical modification, observed by the different techniques, are the following:

- By infrared spectroscopy it is observed that the intensities of the (OH-Mg, Al) and (OH-Al) bonds vibrations in the octahedral sites decrease as the acid concentration increases in the chemical modification.
- By Mössbauer spectroscopy it was verified that during the acid modification process, the Fe^{2+} sites in the clay structure are being oxidized to Fe^{3+} .
- By X ray diffraction, the expansion of the clay structure was verified by the increase of the (0 0 1) reflection interplanar distance and its partial dissolution was observed as the concentration in the acid modification process is increased.
- The Aflatoxin adsorption test indicates that in some cases the acid treatment of the clay can improve its adsorption capacity and in other cases it does not. This behavior can be conditioned to the chemical and structural composition of the clay.
- The most drastic changes in the structure of the clays, as well as the larger percentage of adsorption of Aflatoxins were obtained with a 2N concentration acid treatment.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

El trabajo de la presente tesis forma parte de los estudios realizados en el proyecto de investigación multidisciplinario titulado: “Modificación de arcillas naturales para la obtención de productos con alto valor añadido. Aplicaciones en la producción avícola”, cuyo objetivo fue conocer las posibilidades técnicas del uso de arcillas nacionales modificadas para la adsorción de micotoxinas presentes en el alimento utilizado en la cría intensiva de aves.

La formación de la gran variedad de minerales de arcilla existentes tiene su origen en las cenizas volcánicas. Los minerales de arcilla son aluminosilicatos hídricos y están clasificados como filosilicatos ó silicatos de capas; predominan en las fracciones de arcilla en los suelos en un escenario intermedio o avanzado de temperización.

La composición química de la arcilla es variable. Contiene H, O, Al, Si, Fe, elementos alcalinos y alcalinotérreos, y se presentan por lo general en partículas menores de 2 μm .

La modificación fisicoquímica de las arcillas permite remover los iones Na^+ o Ca^+ intercambiándolos por los de hidrógeno, atacando en cierto grado la estructura reticular de sílice y alúmina, depositándose el hidrógeno directamente dentro de estas láminas. Así la arcilla modificada incrementa su capacidad adsorbente, de aquí su aplicación en diferentes campos, entre ellas la adsorción de materiales orgánicos como las micotoxinas, las cuales se encuentran con frecuencia en el alimento usado por el sector avícola. Las aflatoxinas, *Aspergillus flavus* y *parasiticus*, son micotoxinas que no tienen color, sabor, olor, son fluorescentes con la luz ultravioleta, resisten altas temperaturas (de 260°C a 320°C) sin romperse, de modo que hervir, cocer, fermentar o pasteurizar los alimentos no los elimina. Entre las principales manifestaciones

asociadas a la exposición a estas sustancias, están el daño hepático y renal, mutagénesis, teratogénesis, carcinogénesis, inmunosupresión y citotoxicidad. En el Perú al igual que muchos otros países se han registrado problemas de aflatoxinas en alimentos como el sorgo, maíz, maní, entre otros de consumo animal y humano.

Las moléculas orgánicas que componen las micotoxinas, son de una complejidad química y estructural considerable. Sin embargo, los mecanismos de adsorción tienen el mismo origen fundamental: la interacción dipolar localizada en algunos grupos funcionales de la molécula orgánica y la carga negativa superficial predominante, pero controlable, de la arcilla.

Para la detección de aflatoxinas, los métodos inmunológicos han sido utilizados con mucho éxito debido a su sensibilidad, especificidad, rapidez y simplicidad; entre estos métodos tenemos al ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) aprobado como método oficial de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) para aflatoxinas.

Entre los objetivos específicos de este trabajo se encuentra estudiar y caracterizar las arcillas tipo esmectitas usadas como adsorbentes de micotoxinas, principalmente las aflatoxinas, determinar sus cambios estructurales bajo la modificación química y evaluar su capacidad de adsorción de aflatoxinas. Para esta finalidad se ha empleado las técnicas analíticas de difracción de rayos X, espectroscopía Mössbauer, espectroscopía infrarojo, microscopía electrónica de barrido, absorción atómica y el ensayo de inmuno-sorbente ligado a enzimas ELISA.

El desarrollo de esta investigación se inicia seleccionando 3 de un conjunto de 47 muestras de arcillas, recolectadas de distintas partes del Perú, las que presentaban mayor contenido de esmectitas. Para la determinación del contenido mineralógico y selección de las muestras se empleó la técnica de difracción de rayos X.

Luego de esta etapa, cada muestra seleccionada se sometió a la modificación estructural mediante el tratamiento ácido a diferentes concentraciones. Y con la finalidad de hacer un seguimiento de los cambios provocados por este proceso se realizó el estudio de las muestras en cada etapa de esta modificación por las técnicas antes mencionadas.

De esta manera, mediante la técnica de difracción de rayos X se ha obtenido información sobre la composición de las especies minerales de cada muestra, así

como también sobre los cambios provocados en los planos estructurales debido al tratamiento ácido.

La técnica de espectroscopía Mössbauer nos ha indicado el estado inicial y final de la ocupación del sitio de hierro en la estructura de la esmectita, provocado por el proceso de la modificación fisicoquímica.

Así también, mediante la técnica de espectroscopía infraroja se realizó el seguimiento de aquellos enlaces atómicos que han sido más afectados por el proceso de modificación.

Mediante absorción atómica se obtuvo la información de la composición química de las muestras sin y con tratamiento sobre los elementos Na, K, Mg, Ca, Fe y Al, los cuales son los más susceptibles a ser removidos de la estructura de una arcilla.

Como un complemento a estas técnicas, se estudió las muestras sin tratamiento por un microscopio electrónico de barrido con la finalidad de observar formas, tamaños y composición elemental puntual del material.

Finalmente, se evaluó la capacidad de adsorción de aflatoxinas de las muestras sin y con tratamiento ácido bajo el ensayo de inmuno-sorbente ligado a enzimas ELISA.

1.1 Los minerales de arcilla y su ocurrencia. Selección de muestras.

Estructura de las arcillas

Los minerales no metálicos como la “arcilla” son materiales cuya ocurrencia natural está compuesta primariamente de minerales de granos finos, generalmente de tamaño de partícula $<2\mu\text{m}$. Por otro lado, el término de “minerales de arcilla” se refiere a los minerales filosilicatos, los cuales son generalmente de consistencia plástica a ciertos contenidos de agua y de consistencia dura cuando están secos ó calcinados. Estos minerales están compuestos por aluminosilicatos cuya estructura laminar está compuesto por capas tetraédricas y octaédricas, dispuestas en arreglos especiales dependiendo del mineral arcilloso.

La capa tetraédrica está formada por unidades de tetraedros de $(\text{SiO}_4)^+$ que se unen compartiendo tres de sus cuatros oxígenos con otros vecinos (oxígenos basales) y que forman capas periódicas de hexágonos de tetraedros. El catión Si^{4+} de esta capa puede ser reemplazado por Al^{3+} (Figura 1).

La capa octaédrica está formada por unidades de octaedros de oxihidróxido de aluminio, donde el Al^{3+} puede ser reemplazado por Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} y ocasionalmente por Li^+ , V^{3+} , Cr^{3+} , Mn^{3+} , Ni^{2+} , Ni^{3+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} (Figura 1).

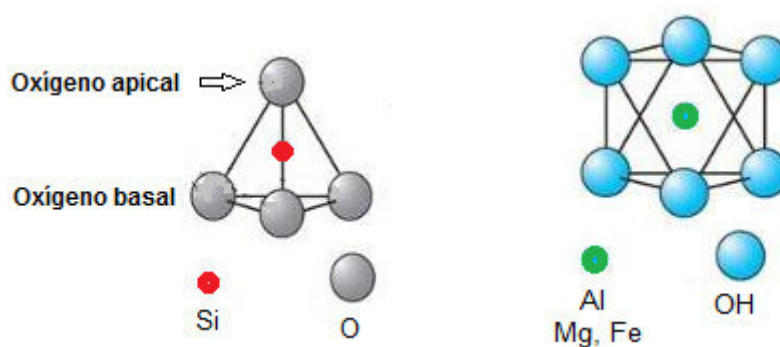


Figura 1. Unidad tetraedral (izquierda) y octaedral (derecha) constituyentes de las arcillas.

Para construir la estructura laminar estas capas se unen entre si de forma que tienen un plano común formado por los oxígenos de los tetraedros. Los oxígenos de los tetraedros que son compartidos con los octaedros se llaman oxígenos apicales, y los oxígenos que unen los tetraedros entre si y forman la superficie externa se llaman oxígenos basales. Aquellos oxígenos de los octaedros que no corresponden a oxígenos apicales, están como grupos hidroxilo (OH) para conservar la electro-neutralidad (Moore, D. y Reynolds, R. 1997; Brindley, G. y Brown, G. 1980).

Dependiendo de la combinación entre capas tetraédricas y octaédricas podemos diferenciar dos tipos de filosilicatos. El filosilicato 1:1 se forma de láminas que contienen una sola capa tetraédrica unida a una sola capa octaédrica. El filosilicato 2:1 se forma de láminas que contienen una capa octaédrica unida a dos capas tetraédricas (Figura 2).

A su vez existe una clasificación debido al grado de ocupación de la capa octaédrica. Estas pueden ser dioctaedral y trioctaedral. En las arcillas dioctaedrales no todos los

huecos octaédricos de dicha capa están ocupados, solo 2/3 del total son ocupados por cationes del tipo trivalente como Al^{3+} , Fe^{3+} principalmente y en algunos casos por cationes divalentes como Mg^{2+} y Fe^{2+} (Figura 3).

En las arcillas trioctaedrales todos los huecos octaédricos de dicha capa están ocupados principalmente por cationes divalentes como el Mg^{2+} , Fe^{2+} aunque también podrían aparecer cationes trivalentes como el Fe^{3+} , Al^{3+} y monovalente como el Li^{+} (Figura 3).

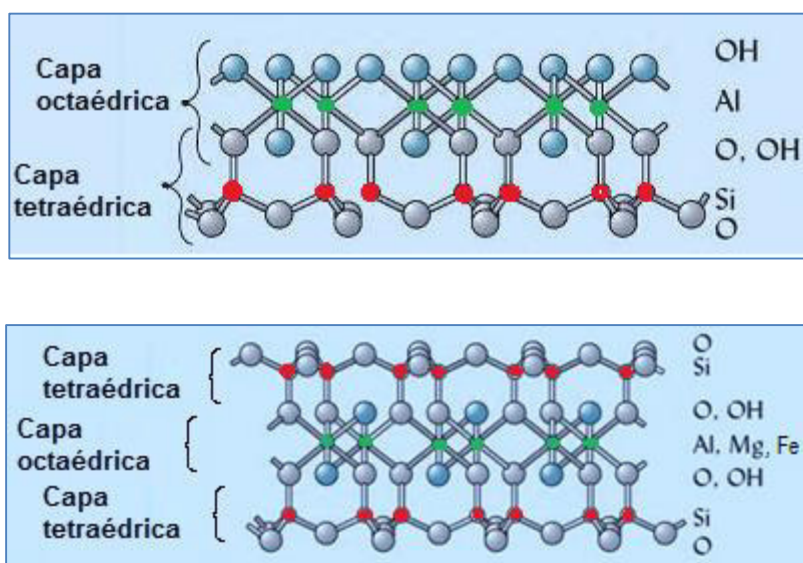


Figura 2. Estructura básica de los filosilicatos tipo 1:1 (arriba) y 2:1 (abajo)

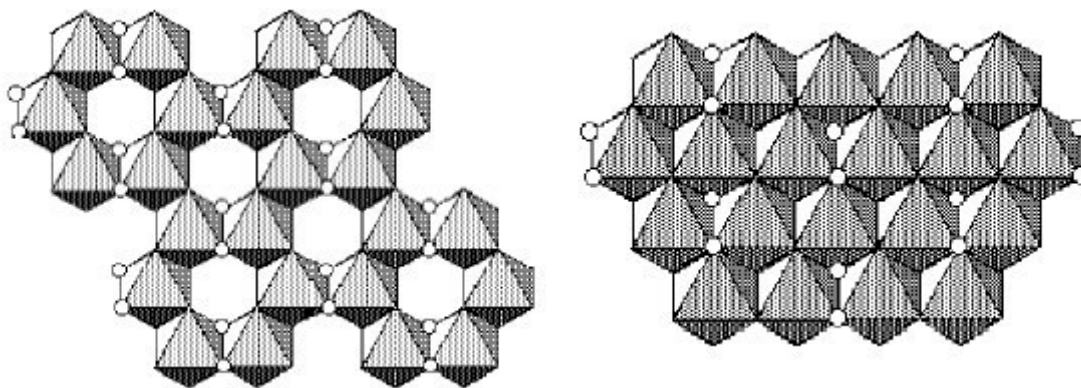


Figura 3. Representación de la capa octaédrica de una arcilla tipo dioctaedral (izquierda) y trioctaedral (derecha). Los círculos en blanco representan grupos OH.

La clasificación de los minerales de arcilla se basa en aspectos de tipo estructural como son la carga interlaminar, el tipo de lámina y la naturaleza de los cationes octaédricos y tetraédricos.

La tabla 1 muestra la clasificación de las arcillas según sus características estructurales. En esta se puede apreciar que para los tres grupos de tipo 2:1 se diferencian una de otra en que la carga laminar decrece en el siguiente orden illita>vermiculita>smectita y que el grupo de la vermiculita se distingue del grupo de la esmectita debido a que hay una mayor sustitución isomórfica en la hoja tetraédrica.

Tabla 1: Clasificación de los minerales de arcilla

Grupo	Lámina por tipo	Carga laminar (x)	Fórmula química ^a
Caolinita	1:1	< 0.01	$[\text{Si}_4]\text{Al}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (n=0 ó 4)
Illita	2:1	1.4 – 2.0	$\text{M}_x[\text{Si}_{6.8}\text{Al}_{1.2}]\text{Al}_3\text{Fe}_{0.25}\text{Mg}_{0.75}\text{O}_{20}(\text{OH})_4$
Vermiculita	2:1	1.2 – 1.8	$\text{M}_x[\text{Si}_7\text{Al}]\text{Al}_3\text{Fe}_{0.5}\text{Mg}_{0.5}\text{O}_{20}(\text{OH})_4$
Esmectita ^b	2:1	0.5 – 1.2	$\text{M}_x[\text{Si}_8]\text{Al}_{3.2}\text{Fe}_{0.2}\text{Mg}_{0.6}\text{O}_{20}(\text{OH})_4$
Clorita	2:1 + hidróxido en la interlámina	Variable	$(\text{Al}(\text{OH})_{2.55})_4 \cdot [\text{Si}_{6.8}\text{Al}_{1.2}]\text{Al}_{3.4}\text{Mg}_{0.6}\text{O}_{20}(\text{OH})_4$

^an=0 para la caolinita y n=4 para la halloysita.

^bprincipalmente la montmorillonita

La ocurrencia de la sustitución isomórfica de cationes en las láminas tetraédricas y octaédricas produce un desorden en la estructura del mineral, que junto con el pequeño tamaño del cristal, dificulta la obtención de buenos datos estructurales a nivel experimental.

La sustitución isomórfica de cationes y su distribución es muy importante ya que afecta a las propiedades de la interlámina de la arcilla, concretamente la de los grupos OH, como son los espectros de vibración y las reacciones de deshidroxilación. La estabilidad térmica de las arcillas depende de la reactividad de los grupos OH, la cual a su vez depende de la naturaleza de los cationes a los que están unidos.

Los grupos OH en las muestras de los filosilicatos dioctaédricos poseen gran importancia ya que determinan el tipo de vacancia que se genera en la capa octaédrica. Dependiendo de la posición de los grupos OH respecto al sitio vacante, se definen dos tipos de polimorfos: “vacancia en cis”, cuando los grupos OH están del mismo lado de la vacante; y “vacancia en trans”, cuando los grupos OH están en sitios opuestos de la vacante. La configuración trans tiene un centro de simetría, mientras que la cis no lo tiene. Las esmectitas tienden a tener una configuración con vacancia en cis, mientras que las illitas tienen tendencia a tener la vacancia en trans. En los procesos de deshidroxilación las estructuras con vacancia en cis se deshidratan a mayores temperaturas que las de vacancia en trans. Sin embargo, no está claro si la estructura con vacancia en trans es más estable que la de la vacancia en cis para la deshidroxilación. Otro aspecto importante es la reactividad de los grupos OH, la cual depende de la naturaleza de los cationes a los que están unidos, por lo que la distribución de los cationes en la lámina octaédrica es importante en los procesos de deshidroxilación (Escanilla, 2005) (Figura 4).

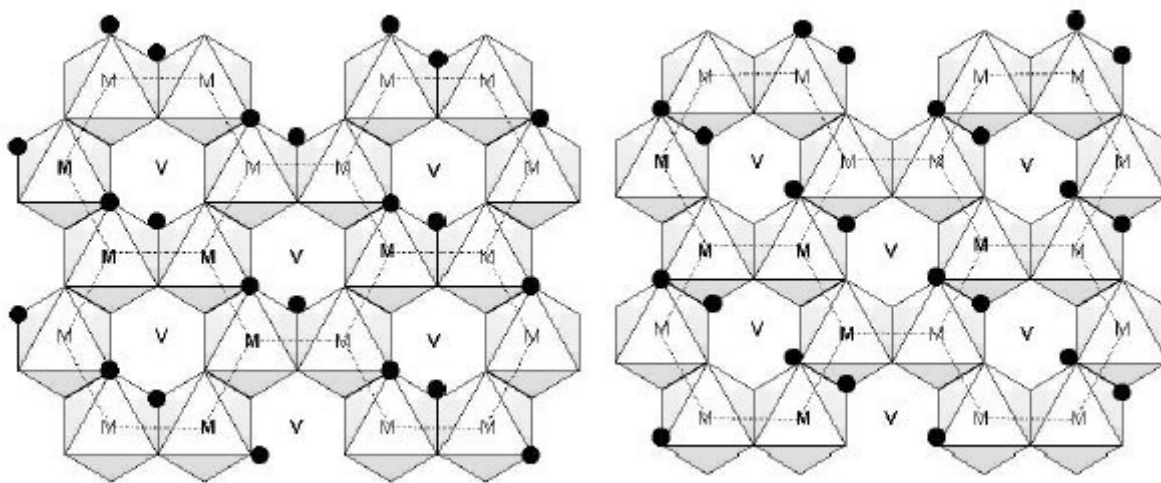


Figura 4. Proyección de la lámina octaédrica en filosilicatos tipo 2:1. Estructura “vacancia en cis” (izquierda) y “vacancia en trans” (derecha)

Las esmectitas

Las esmectitas son minerales arcillosos cuyas láminas están constituidas por dos capas tetraédricas y una octaédrica, (Dorothy, 1969) (Figura 5). Las condiciones geológicas de formación de las esmectitas determinan variaciones en su composición química. Algunos de los sitios octaédricos ocupados por Al^{3+} pueden ser ocupados por átomos de Mg, Fe, Cr, Mn o Li. Si el sustituyente tiene un estado de valencia 2+ como es el caso del Mg, pequeños cationes alcalinos como Na^+ y Ca^{2+} se ubican en el espacio interlamilar compensando la deficiencia de carga. Estos cationes de compensación débilmente enlazados, pueden ser reemplazados por otras moléculas polares confiriendo a la esmectita una de sus propiedades más notables que es la de intercambiador catiónico. Debido a la naturaleza polar del agua, es posible encontrar varias capas $n\text{H}_2\text{O}$ en el espacio interlamilar, dándole al material propiedades físicas como plasticidad y capacidad de hinchamiento, (Moore et al., 1997). La tabla 2 muestra la clasificación de las diferentes esmectitas.

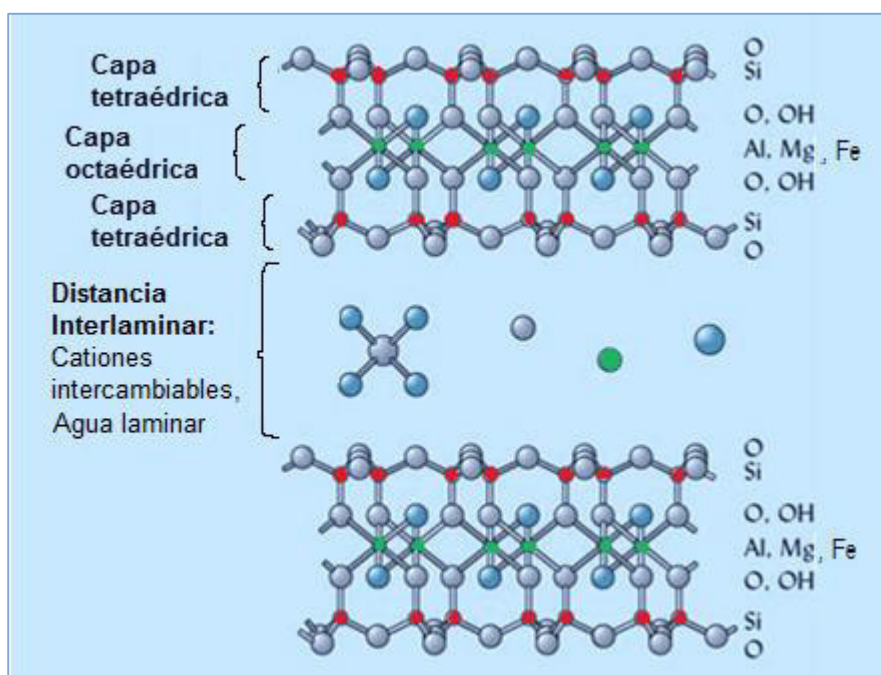


Figura 5. Esquema de los componentes de la estructura de una esmectita.

Tabla 2. Clasificación de las esmectitas.

<u>Grupo</u>	<u>Subgrupo</u>	<u>Especie</u>	<u>Fórmula estructural</u>	<u>Carga</u> <u>VI / IV</u>
Esmectita	Trioctaédrica	Hectorita	$X^{+}_{0.33}(\text{Mg}_{2.67}, \text{Li}_{0.33})\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	VI=-0.33 IV=0
Esmectita	Trioctaédrica	Saponita	$X^{+}_{0.33}(\text{Mg}_{2.67}, X^{3+}_{0.33})(\text{Si}_{3.34}, \text{Al}_{0.66})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	VI=+0.33 IV=-.66
Esmectita	Trioctaédrica	Sauconita	$\text{Na}_{0.3}\text{Zn}_3\text{Si}_{3.85}\text{Zn}_{0.15}\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	VI=-0.3 IV=0
Esmectita	Diocetaédrica	Montmorillonita	$X^{+}_{0.33}(\text{Al}_{1.67}, \text{Mg}_{0.33})\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	VI=-0.33 IV=0
Esmectita	Diocetaédrica	Nontronita	$X^{+}_{0.33}\text{Fe}^{3+}_2(\text{Si}_{3.67}, \text{Al}_{0.33})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	VI=0. IV=-0.33
Esmectita	Diocetaédrica	Beidellita	$X_{0.33}\text{Al}_2(\text{Si}_{3.67}, \text{Al}_{0.33})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	VI=0 IV=-0.33

X^{+} : Catión de Al^{3+} de la capa octaédrica que puede ser sustituido principalmente por otros cationes como Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ti^{4+} y Mn^{2+} .

Selección de las muestras

La recolección inicial de muestras se realizó en diversos departamentos de Perú, considerando los estudios geológicos previos (Dunin, 1996) y las experiencias de los pobladores del lugar con este tipo de materiales. Se reunieron 47 tipos de muestras en total, de las cuales se seleccionaron 18, considerando el uso frecuente de la arcilla en la zona de recolección y las condiciones favorables para obtener la mayor cantidad de muestra.

Estas 18 muestras fueron caracterizadas de manera preliminar por las técnicas de Difracción de Rayos X (DRX) y Espectroscopía Infrarroja (FT-IR). Con estas pruebas preliminares, se determinaron las más adecuadas para continuar con el estudio de su composición mineralógica y llevar a cabo la selección final que nos conduzca a encontrar las arcillas naturales más apropiadas para ser utilizadas como adsorbentes de micotoxinas.

La caracterización preliminar de las muestras permitió clasificar a éstas en dos grupos: un grupo de arcillas con alto contenido de esmectita (Grupo 1) y otro que no contenía este tipo predominantemente (Grupo 2). Luego de la selectividad debido a su composición, el tratamiento de activación ácida y su caracterización se realizó para las muestras del grupo 1. La tabla 3 muestra la selectividad de las muestras para el tipo de tratamiento.

Tabla 3. Grupos de muestras y su condición de tratamiento.

Grupos	Muestra	Tipos de arcillas	Lugar de origen	Tratamiento Ácido
1	HU	Montmorillonita	Huancayo	Si
	IC	Montmorillonita	Ica	Si
	LI	Montmorillonita	Comercial-Peru	Si
	EU	Montmorillonita	Comercial-USA	Si
2	TR	Clorita	Trujillo	No
	AY	Muscovita	Ayacucho	No
	MAL	Caolinita, Illita	Puerto Maldonado	No
	MAL	Nontronita, Caolinita e Illita	Puerto Maldonado	No
	SA	Caolinita	Chachapoyas	No
	PU	Montmorillonita, Caolinita	Puno	No

Finalmente, las muestras seleccionadas por su alto contenido de esmectita fueron: IC, HU y EU.

1.2 Modificación fisicoquímica de las arcillas.

La modificación físico química de las arcillas se realizó mediante el proceso de activación ácida con temperatura controlada. Este proceso consiste en la disolución parcial de la arcilla en un medio ácido. La consecuencia final del proceso es el

incremento de la capacidad de adsorción de la arcilla, lo cual ha sido verificado tanto para compuestos orgánicos como inorgánicos. Una de las hipótesis más aceptadas que explican el incremento de la adsorción es que los protones penetran en los espacios interlaminares y reaccionan con los grupos OH produciendo una deshidroxilación de la capa octaédrica (Komadel, P. 2003).

Los factores que influyen en el grado de disolución son: La concentración de la solución ácida, la temperatura, el tiempo de contacto y el grado de agitación.

El tratamiento de activación ácida fue realizado con HCl en un reactor de vidrio Pirex, con refrigerante a reflujo y agitación mecánica con temperatura constante. La figura 6 muestra un esquema del proceso de la activación ácida. Las condiciones de tratamiento fueron: relación sólido/ácido de 6,6% p/v, tiempo de contacto de 2h, temperatura de 90°C y concentración 2N y 8N. Luego del tratamiento las muestras fueron lavadas hasta pH=3.

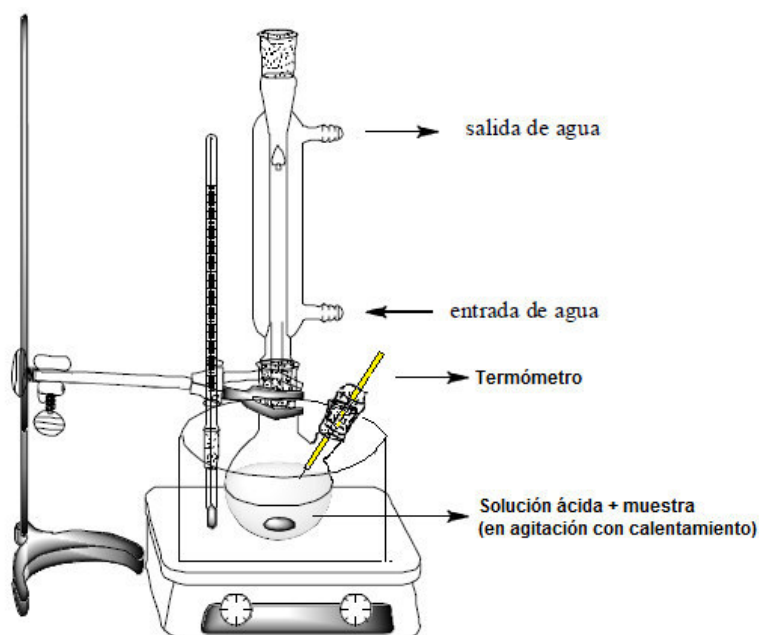


Figura 6. Esquema del proceso de activación ácida.

1.3 Las esmectitas como adsorbentes de Aflatoxinas.

Las Aflatoxinas (Af) fueron descubiertas en 1960 por un grupo de investigación británico. Su nombre procede de la toxina del *Aspergillus flavus* y fue propuesto en 1962 por sus descubridores.

Las Af son un grupo de metabolitos fúngicos tóxicos producidos por cepas micotoxigénicas de *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus parasiticus* Speare y *Aspergillus Nider*. Existen cuatro tipos de Af cuya presencia en los alimentos es más frecuente, las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, siendo la Af B1 la que posee una actividad tóxica más potente. Así tenemos:

Aflatoxina B1 & B2: es producida por *Aspergillus flavus* y *parasiticus*.

Aflatoxina G1 & G2: producida por *Aspergillus parasiticus*.

Aflatoxina M1: metabolito de la Aflatoxina B1 en humanos y en animales.

La designación B se debe a que bajo la luz ultravioleta exhiben fluorescencia azul, y la designación G es debido a que bajo luz ultravioleta su estructura exhibe fluorescencia amarilla verdosa.

La Af M1 es uno de los principales productos de biotransformación de la Af B1.

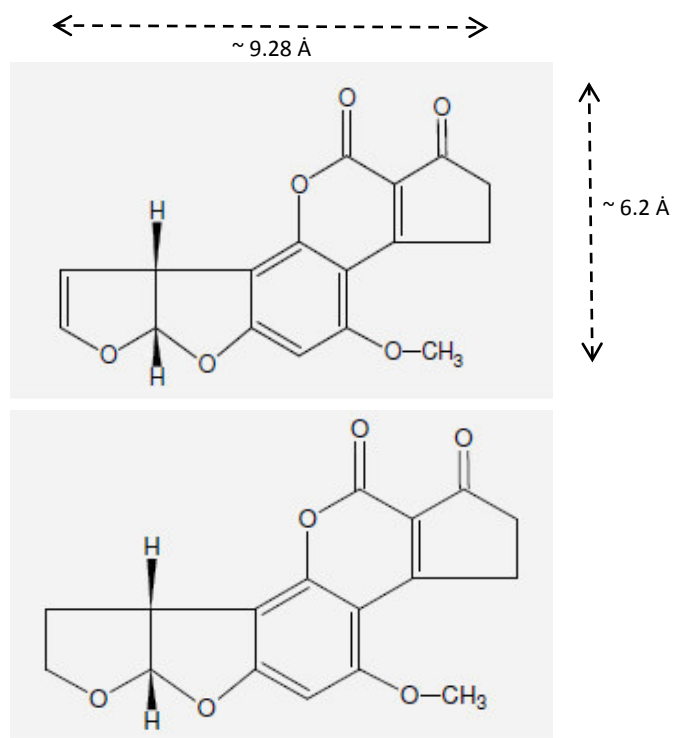


Figura 7. Representación de la estructura molecular de la Aflatoxina: AfB1 (arriba) y AfB2 (abajo).

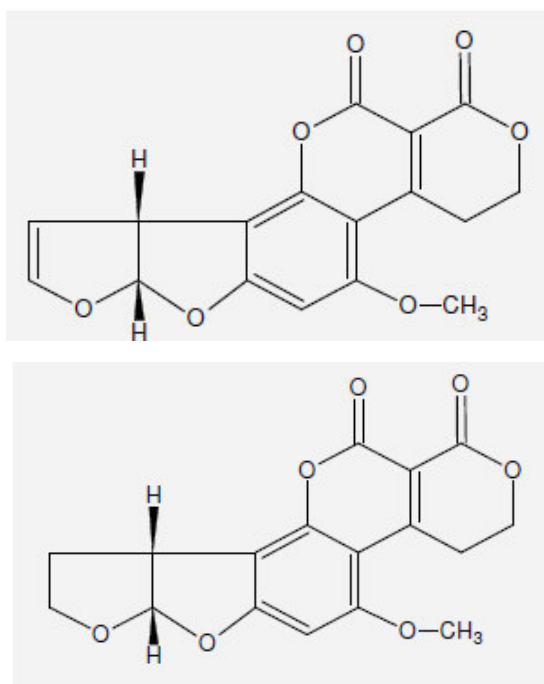


Figura 8. Representación de la estructura molecular de la Aflatoxina: AfG1 (arriba) y AfG2 (abajo).

Tabla 4. Características químicas de las Aflatoxinas.

Tipo Aflatoxina	Fórmula Estructural	Peso Molecular (g/mol)	Punto Fusión °C
Serie 1 difuro-cumaro-ciclo-pentanonas			
B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269
B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293
Serie 2 difuro-cumaro-lactonas			
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	328	244-246
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240

Características químicas

Las Aflatoxinas son inodoras, insípidas e incoloras. Químicamente, son estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales. Es difícil eliminarlas una vez que se producen. Las Aflatoxinas son un grupo de hepatocarcinógenos pertenecientes a la familia de las difurano-cumarinas, se clasifican en dos grandes grupos de acuerdo a su estructura química; la serie 1 difuro-cumaro-ciclo-pentanonas (AfB1, AfB2, AfB2A, AfM1, AfM2, AfM2A y aflatoxicol) y la serie 2 difuro-cumaro-lactonas (AfG1, AfG2, AfG2A, AfGM1, AfGM2, AfGM2A y AfB3). Las Aflatoxinas M1 y M2 son respectivamente productos hidroxilados del metabolismo oxidativo de las aflatoxinas B1 y B2. Estos metabolitos pueden eliminarse en la leche (tanto en humanos como en animales). Las Af B2, G1 y G2 son menos frecuentes y casi nulas en ausencia de AfB1. Las Af pueden causar toxicidad aguda y crónica en los animales. Los efectos como daños de tipo agudo en hígado, cirrosis, inducción de tumores y efectos teratogénicos se han documentado en la literatura (Leeson, S y Summers, J. 1997).

Los principales efectos biológicos de las Aflatoxinas son la carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis e inmunosupresión [Urrego, y Diaz, 2006; Huwing et al., 2001]. Las Aflatoxinas causan daños al hígado, producen una disminución de la producción de leche y huevos, y afectan severamente al desarrollo y al estado inmunitario de los animales que las consumen con la dieta y en muchos casos provocar la muerte por la ingesta de alimentos infectados con alguna de estas toxinas [Caballero et al., 2001; Lara et al., 2001].

Las esmectitas tienen diversas aplicaciones, entre ellas las que se producen en la industria farmacéutica como los antidiarreicos, protectores dermatológicos, como emulsiones y cremas. En este contexto las esmectitas inhiben la enzima tripsina que es muy dañina en pacientes con colitis ulcerosas. Muchos estudios han demostrado que las esmectitas ayudan a prevenir los efectos adversos de las aflatoxinas en diferentes animales cuando éstas se incluyen en su dieta alimenticia, sin interferir en las vitaminas y micronutrientes de su alimento; así también evita su absorción gastrointestinal al impedir que atraviesen la membrana intestinal del animal. Por otro lado, la sorción de otro tipo de micotoxinas es limitada (Ramos G. y Hernandez et al., 1997; Pineda et al., 2012).

Los estudios iniciales de las pruebas de aluminosilicatos sódico-calcico (HSCAS) en los alimentos de animales corresponden a los años 1987 y 1988 por Davidson et al. y Phillips et al., respectivamente. Phillips evaluó la capacidad de enlace de alúmina, silicatos y aluminosilicatos in vitro antes de seleccionar al HSCAS como el mejor sorbente en ensayos in vivo con pollos. Los estudios iniciales mostraron que el HSCAS posee alta afinidad para la Aflatoxina B1, además la inclusión de arcillas en los alimentos reduce algunos de los efectos adversos de las aflatoxinas en los animales. Además, encontró que la adsorción era estable a temperaturas de 25 a 37°C sobre un pH de 2 a 10 por el contrario del proceso de desorción por series eluotrópicas con solventes (proceso de extracción de un material a partir de otro mediante lavados con solventes).

Los posibles sitios de las esmectitas para la sorción de Aflatoxinas incluyen la interlámina, la superficie externa y los bordes. Phillips et al., propuso que una posible reacción entre el enlace químico de la superficie de la esmectita y la molécula de Aflatoxina podría ser mediante el mecanismo de donador/aceptor de electrones (EDA). Este mecanismo involucra el compartimento de electrones desde la superficie negativa de las arcillas con los átomos en la molécula adsorbida que son parcialmente positivos. Los carbonos que comprenden el sistema dicarbonil en las Aflatoxinas son parcialmente positivos (escaso de electrones) y también se ha demostrado ser esencial para el proceso de adsorción (Kannevischer, 2006) (Komadel et al., 2006).

CAPITULO 2

TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPLEADAS

2.1 Difracción de Rayos X

2.1.1 Principios básicos

Producción de los rayos X.

Los rayos X fueron descubiertos en 1895 por el físico alemán Wilhelm Röntgen y fue denominado así ya que la naturaleza de dichos rayos era desconocida en aquel tiempo. A diferencia de la luz ordinaria estos rayos eran invisibles; sin embargo, viajaban en línea recta y afectaban las películas fotográficas de la misma manera que la luz. Por otro lado, éstos eran mucho más penetrantes que la luz y podían atravesar fácilmente objetos “opacos” como el cuerpo humano, la madera, piezas gruesas de metal entre otros.

Hoy sabemos que los rayos X son radiación electromagnética de la misma naturaleza que la luz pero de longitud de onda (λ) mucho más corta. Los rayos X usados para difracción tienen una longitud de onda en un rango aproximado de 0,5-2,5 Å, ubicado en el espectro electromagnético entre la luz ultravioleta y la radiación gamma (como referencia la longitud de onda de la luz visible es del orden de 6000Å).

Los rayos X son producidos cuando cualquier partícula eléctricamente cargada que lleva suficiente energía cinética es desacelerada rápidamente. Para este propósito generalmente se utilizan los electrones, en el caso de radiación convencional.

Un tubo de rayos X básicamente está constituido de dos partes: el filamento (cátodo) y un metal objetivo (ánodo). Los electrones producidos por la aplicación de cierto voltaje

viajan rápidamente desde el cátodo hacia el ánodo; en el impacto se generan los rayos X los cuales se irradian en todas las direcciones.

La energía cinética en el impacto es $KE = 1/2mv^2$, donde m es la masa del electrón, $m = 9,11 \times 10^{-31}$ kg, y v su rapidez en m/s justo antes del impacto. Menos del 1% de la energía cinética de los electrones que golpean el ánodo es transformada en rayos X, el resto es convertido en calor. La figura 9 muestra las curvas obtenidas luego del análisis de los rayos que provienen del ánodo, aquí se puede observar que el espectro consiste de una mezcla de diferentes longitudes de onda de similar distribución, además; la variación de la intensidad con la longitud de onda es dependiente del voltaje aplicado al tubo. Se puede observar también que para cierto voltaje (25 kV para el Mo) la curva que representa la radiación emitida consiste de dos tipos de radiación continua y característica.

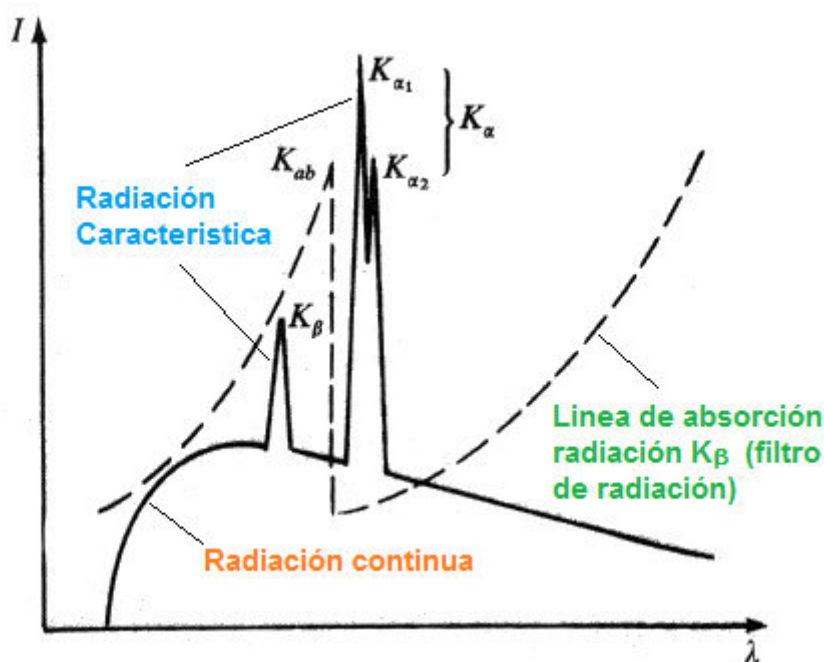


Figura 9. Representación de la radiación continua y característica de los rayos X.

El espectro continuo se debe a la desaceleración rápida de los electrones que golpean el ánodo, ya que cualquier carga desacelerada emite energía. Por otro lado, cuando se incrementa el voltaje en un tubo de rayos X sobre cierto valor crítico, característico de la tarjeta metálica, aparecen ciertas longitudes de onda, líneas agudas de intensidad máxima que se superponen al espectro continuo, denominadas líneas características

K, L, M, ... en orden creciente de la longitud de onda. Si uno de los electrones que bombardea el ánodo del tubo tiene energía cinética suficiente tal que golpee y saque a un electrón de la capa K, dejará al átomo en un estado excitado, dejando una vacancia la cual podría ser ocupada por cualquier electrón de una capa más externa, emitiendo energía en el proceso, dando lugar a una serie de líneas K. Por ejemplo las líneas K_{α} y K_{β} son el resultado del llenado de la capa K por electrones de la capa L ó M respectivamente.

Dentro de las líneas K, que son las de mayor energía, se encuentran las componentes K_{α} y K_{β} . Estas líneas tienen la característica de ser muy intensas (por ejemplo para el Cu, 90 veces mayor que el espectro continuo) y muy angostas ($<0,001\text{\AA}$ de ancho a media altura del pico), por lo que es una radiación aproximadamente monocromática.

De un tubo de rayos X, a cierto voltaje V_K , se obtiene no sólo las K_{α} sino también las K_{β} y el espectro continuo. Por lo tanto, hay que interponer un material filtro adecuado, que absorba las radiaciones indeseables, dejando mayoritariamente la radiación K_{α} , que será casi monocromática. El material filtro empleado, para ánodos metálicos con número atómico Z del orden de 30, debe tener un número atómico Z-1.

A partir del descubrimiento de los rayos X por Roentgen y el primer experimento de difracción de rayos X para cristales, hecho por Friedrich, Knipping y Max von Laue en 1912 así como también los trabajos experimentales y teóricos de Bragg, padre e hijo, en 1913, se desarrolló la cristalografía por rayos X. La difracción de rayos X se ha convertido en el mejor medio para entender la estructura de los cristales en una escala atómica, ya que nos permite abarcar aspectos de medida del tamaño de cristalito, estrés residual, análisis de composición de fases, refinamiento de parámetros de red, cuantificación de fases cristalinas, polimorfismo, transiciones de fase, entre otras aplicaciones.

Cristales – parámetros.

Un cristal es una disposición de átomos en el espacio con un determinado patrón periódico. Geométricamente se pueden formar celdas (grupos de átomos) idénticas y tomar una de ellas como celda unidad. Las distancias de los ejes y los ángulos que forman entre ellos, son los que se definen como parámetros de la red.

La notación empleada para localizar direcciones y planos de una celda unitaria, son simbólicamente representados por los índices de Miller, definidos por los recíprocos de las intersecciones fraccionales que tienen los planos con los ejes cristalográficos; se

denotan h , k , l y definen un conjunto de planos paralelos denominados planos $h k l$ (Figura 10).

La distancia entre los planos paralelos hkl se denomina d_{hkl} , y es función de los índices del plano y de las constantes de red (longitudes de ejes y ángulos entre ellos para la celda unidad).

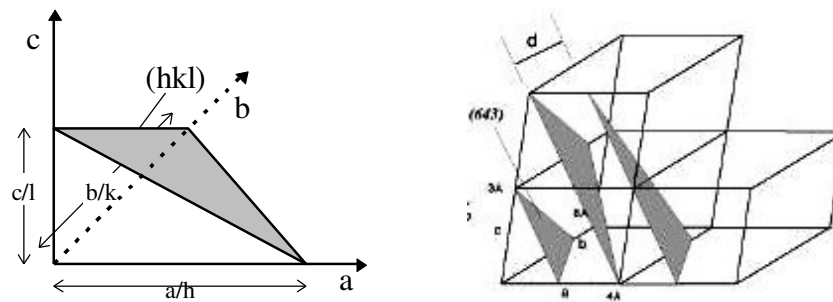


Figura 10. Representación de planos por los índices de Miller

Para el caso de las esmectitas, la celda unitaria está constituida por 20 oxígenos y cuatro grupos OH, con 8 sitios tetraédricos y 6 octaédricos. Con una distancia interplanar aproximado a 14\AA , sin embargo ésta puede variar dependiendo de la capacidad de absorción de cationes, moléculas de agua u otras moléculas polares en su espacio interlaminar (Besoain, 1985) (Figura 11).

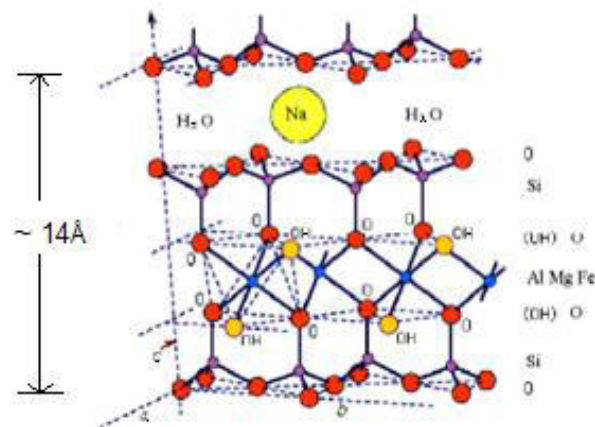


Figura 11. Esquema de la celda unidad de la esmectita.

Difracción

En 1912 Von Laue, observó que los rayos X poseen la longitud de onda correcta para difractarse en una red espacial de átomos, basándose en que los cristales son compuestos de átomos igualmente espaciados y en que la longitud de onda de los rayos X es del orden de la distancia interatómica. En junio de ese mismo año publicó el primer patrón de difracción (de un sulfato de cobre) en *Proceedings of the Royal Bavarian Academy of Science*.

La difracción se debe principalmente a la existencia de relaciones entre las fases de dos o más ondas, que surgen como una diferencia de caminos de los rayos correspondientes a cada una. Dos ondas están completamente en fase, cuando su diferencia de camino es nula o difiere en un número entero de longitudes de onda, por lo que aparece un reforzamiento de la amplitud total resultante y, por lo tanto, un máximo de intensidad.

Bragg expresó las condiciones necesarias para la difracción entre planos de átomos (Figura 12), en una forma matemáticamente simple conocida como Ley de Bragg (según la cinemática de difracción).

$$n \lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

donde:

n , es un número entero (denominado orden de reflexión).

λ , es la longitud de onda incidente

d , la distancia interplanar (para el caso de planos hkl , es d_{hkl})

θ , es el ángulo formado entre el rayo incidente y el plano de la muestra.

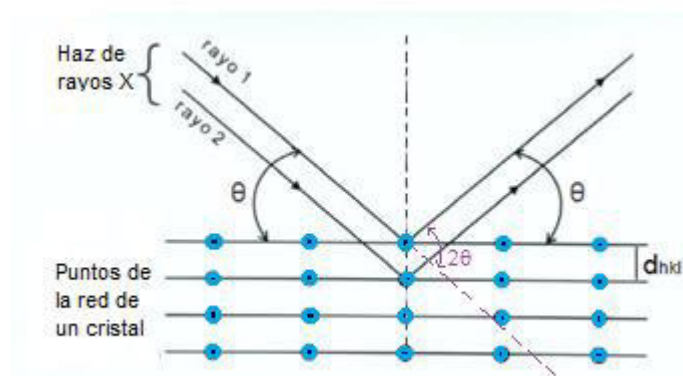


Figura 12. Representación del Modelo de Bragg.

Luego para un λ conocido, variando θ podemos encontrar las distancias d características de la muestra. Cada línea de difracción primaria puede ir acompañada de otras, secundaria, terciaria, etc., dependiendo del orden de difracción n .

En un difractograma cada pico de difracción es producido por una familia de planos atómicos, la posición de cada pico indica la distancia interplanar d_{hkl} entre los planos atómicos del cristalito. La intensidad del pico de difracción está asociada a los átomos que están presentes y la ubicación de éstos en los planos atómicos, así:

$$I_{hkl} \propto |F_{hkl}|^2 \quad (2)$$

$$F_{hkl} = \sum_{j=1}^m N_j f_j \exp[2\pi i(hx_j + ky_j + lz_j)] \quad (3)$$

en donde F_{hkl} es el factor de estructura, x_j , y_j , z_j son las coordenadas fraccionarias del j -ésimo átomo, N_j refiere a la multiplicidad de la ocupación de los átomos, f_j es el factor de forma atómica del j -ésimo átomo.

Dentro de los factores que influyen la intensidad de los picos de difracción podemos mencionar a los factores estructurales, instrumentales, de muestra y de medida (Petrick, S. y Castillo, R. 2008).

El patrón de difracción está determinado únicamente por la forma, tamaño de la celda unitaria y por el número de celdas en cada gramo cristalino. Cada sustancia cristalina produce un difractograma único. En una muestra policristalina cada componente producirá su difractograma independientemente de las otras; por tanto, el difractograma resultante contiene información de todos los componentes de la muestra los cuales pueden ser identificados. Así también, existe una relación entre las intensidades de las líneas de difracción de cada compuesto y su cantidad en la muestra, por lo que también puede emplearse para el análisis cuantitativo.

2.1.2 Procedimiento experimental

La difractometría empleada es de polvos para cuyo fin se necesita el material reducido a un polvo fino que es dispuesto aleatoriamente en un portamuestra sobre el cual se incide los rayos X.

Cada partícula de polvo es uno ó varios pequeños cristales, orientados al azar con

respecto al haz incidente. Considerando una reflexión particular hkl , algunos cristales estarán orientados de manera que formen un correcto ángulo de Bragg θ para la reflexión, por lo que se produce la difracción y aparece un pico.

La configuración básica de un difractómetro está constituida por un tubo de rayos X, un portamuestra plano con la muestra en polvo aleatorio centrada en el centro óptico del goniómetro y un detector (Figura 13).

Según la configuración del difractómetro, el portamuestra puede o no rotar en torno a su eje O con una velocidad angular constante. El haz de rayos X proveniente del tubo es colimado por una rendija de divergencia D. El haz difractado converge sobre una rendija R e incide en la ventana del detector de radiaciones. Tanto la rendija de recepción como el contador, forman una unidad móvil que se desplaza en torno al eje del goniómetro a una distancia r (radio del goniómetro) constante.

El difractómetro de rayos X utilizado en este trabajo es de la marca RIGAKU modelo “Miniflex”, con radiación $\text{Cu-K}\alpha$, y filtro de Ni. El intervalo de medición (2θ) fue de 5° a 65° con paso angular de $0,02^\circ$ y un tiempo de conteo de 2 s/paso. Las muestras se prepararon por el método de polvo. Se utilizaron 500 mg con granulometría de malla 200 aproximadamente. Para la identificación de la composición mineralógica se utilizó la base de datos del ICDD PDF2-2004.

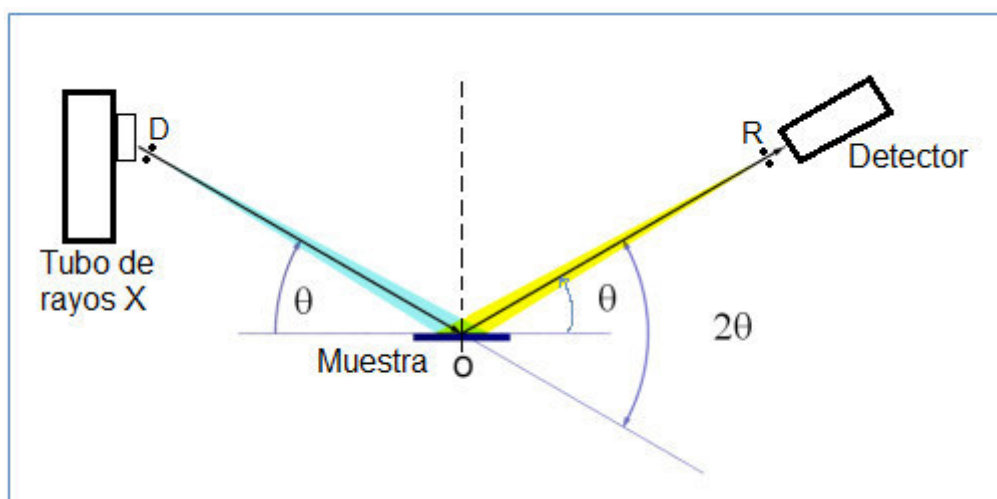


Figura 13. Representación de la geometría de Bragg-Brentano.

2.2 Espectroscopía Mössbauer

2.2.1 Principios básicos

El aporte de la espectroscopía Mössbauer (EM) de ^{57}Fe al conocimiento de las arcillas radica en el estudio de las propiedades químicas del hierro que éstas poseen, empleando ya sea para el estudio como materia prima o nuevo material como es el caso de la presente tesis, material químicamente modificado para ser aplicado en la industria avícola.

La EM es una técnica nuclear que se fundamenta en el efecto Mössbauer, descubierta por R. L. Mössbauer en 1957, que utiliza la emisión y absorción resonante de rayos gamma, libre de retroceso, por los núcleos de ciertos isótopos, como ^{57}Fe , para caracterizar el ambiente electrónico que los rodea (Gütlich et al., 1978). En consecuencia, es una técnica isotópicamente selectiva por cuanto el núcleo absorbente tiene que ser de la misma especie isotópica que el núcleo emisor de la radiación gamma utilizada. El isótopo natural de ^{57}Fe posee una abundancia atómica del 2,12%. Por coincidencia, la transición γ 14,413 keV en este isótopo reúne las condiciones ideales para observar el efecto Mössbauer y, por otro lado, el hierro es un elemento químico razonablemente abundante (5,1%) en la corteza de la Tierra. Adicionalmente, el catión hierro puede tomar dos estados de valencia: el estado férrico (Fe^{3+}) y el ferroso (Fe^{2+}), lo cual enriquece la información química que se puede obtener de la muestra en estudio.

La EM de ^{57}Fe permite identificar minerales que contengan hierro en su estructura molecular, ya sea como catión principal o como catión de sustitución. Esta técnica requiere que la muestra sea sólida y no pone exigencias sobre su grado de cristalinidad, de manera que la EM complementa muy bien a la difracción de rayos X en lo pertinente a los minerales que contienen hierro. El grado de sensibilidad de esta técnica, en condiciones favorables, es de 0,1 mg/cm² de hierro natural en la muestra. La EM caracteriza cada sitio estructural que ocupan los átomos de hierro en términos de un conjunto de parámetros hiperfinos: corrimiento isomérico (ISO), desdoblamiento cuadrupolar (QUA) y campo magnético hiperfino (B_{hf}), que cuantifican la interacción de sus núcleos con los campos eléctrico y magnético en su entorno, permitiendo distinguir

con relativa facilidad si el sitio estructural está ocupado por un catión férrico (Fe^{3+}) o ferroso (Fe^{2+}), y además diagnosticar el ordenamiento magnético existente en los sitios estructurales.

Cada sitio estructural ocupado por hierro en estado paramagnético da lugar a un doblete característico. Los dobletes asociados al hierro en estado ferroso generalmente poseen un ISO y un QUA relativamente grandes comparados al hierro en estado férrico debido a que la distribución de carga electrónica es más asimétrica en el estado ferroso que en el estado férrico. Cada sitio estructural ocupado por átomos de hierro con ordenamiento magnético da lugar a un sexteto magnético característico; en estos casos el hierro está en estado férrico (Rancourt, D. 1998; Cardile, C. 1987). Los valores relativos ó porcentuales de las áreas parciales asociadas a cada sitio estructural son una medida aproximada de la abundancia relativa de cada sitio en la muestra.

A continuación se hace una breve descripción concerniente a las interacciones cuadrupolar eléctrica, corrimiento isomérico y magnética hiperfina. El sistema de referencia de unidades usado es el Sistema Cegesimal C. G. S.

Interacciones Hiperfinas

Interacción Hiperfina Eléctrica

La energía total de la interacción electrostática entre un núcleo con carga Ze y las cargas que lo rodean se expresa como:

$$E_{el} = \int \rho_n(r)V(r)d\tau \quad (2)$$

donde

ρ_n es la densidad de carga nuclear en un punto con coordenadas $r = (x_1, x_2, x_3)$.

$V(r)$ es el potencial de Coulomb, en un punto r , producido por todas las otras cargas externas al núcleo.

$dr = dx_1 \cdot dx_2 \cdot dx_3$ representa el elemento de volumen.

El centro del sistema de coordenadas coincide con el centro de simetría de la carga nuclear.

Expandiendo $V(r)$ en series de Taylor alrededor de $r = 0$,

$$V(r) = V_0 + \sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial V}{\partial x_i} \right)_0 x_i + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^3 \left(\frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j} \right)_0 x_i x_j + \dots \quad (3)$$

Insertando (3) en (2), tenemos:

$$E_{el} = V_0 \int \rho_n(r) d\tau + \sum_{i=1}^3 \left(\frac{\partial V}{\partial x_i} \right)_0 \cdot \int \rho_n(r) x_i d\tau + \frac{1}{2} \sum_{i,j=1}^3 \left(\frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j} \right)_0 \cdot \int \rho_n(r) x_i x_j d\tau + \dots \quad (4)$$

Como para la carga nuclear $eZ = \int \rho_n(r) d\tau$, el primer término en (4) se hace eZV_0 .

Este término representa la interacción electrostática entre el núcleo considerado como una carga puntual y las otras cargas en el material. Esto contribuye a la energía potencial del cristal como un todo. El segundo término en la Ec. (4) expresa la interacción bipolar eléctrica, el cual se anula debido a factores de simetría nuclear, razón por la que también no existen los términos impares de dicha ecuación. Los términos pares superiores al tercer término de la ecuación se hacen despreciables debido a que la energía de interacción es muy pequeña para ser resuelto por la espectroscopia Mössbauer. Quedando, el tercer término como único término de nuestro interés con respecto al caso puntual.

La cantidad $\left(\frac{\partial^2 V}{\partial x_i \partial x_j} \right)_0 = V_{ij}$, forma un tensor (3x3) de segundo orden. Eligiendo un

sistema de coordenadas tal que todos los elementos V_{ij} desaparezcan excepto los términos diagonales V_{ii} (sistema de eje principal), sumando y restando

$\frac{1}{6} \sum_{i=1}^3 V_{ii} \cdot \int \rho_n(r) r^2 d\tau$ al tercer término de la Ec. (4), ésta se puede expresar como:

$$E = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 V_{ii} \cdot \int \rho_n(r) x_i^2 d\tau = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 V_{ii} \cdot \int \rho_n(r) \left(x_i^2 - \frac{r^2}{3} \right) d\tau + \frac{1}{6} \sum_{i=1}^3 V_{ii} \cdot \int \rho_n(r) r^2 d\tau \quad (5)$$

siendo $r^2 = \sum_{i=1}^3 \int x_i^2$

luego la ecuación diferencial de Laplace $\Delta V + 4\pi\rho_e = 0$ evaluada en el punto $r = (x_1, x_2, x_3)$ (centro de simetría del núcleo), con $\rho_e = -e|\psi(0)|^2$ (densidad de carga ejercida por los electrones que rodean el núcleo en $\vec{r} = 0$), se expresa como:

$$(\Delta V)_0 = \left(\sum_{i=1}^3 V_{ii} \right)_0 = 4\pi e |\psi(0)|^2, \quad (6)$$

Incorporando esta última ecuación en (5), tenemos:

$$E = \frac{2}{3} \pi e |\psi(0)|^2 \int \rho_n(r) r^2 d\tau + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^3 V_{ii} \cdot \int \rho_n(r) \left(x_i^2 - \frac{r^2}{3} \right) d\tau = E_I + E_Q \quad (7)$$

En la última ecuación el primer término representa la interacción monopolar eléctrica, que provoca un corrimiento en los niveles de energía atómica y da lugar al corrimiento isomérico δ . El segundo término representa la interacción cuadrupolar eléctrica. Ésta da lugar al rompimiento de la degeneración de los niveles de energía nucleares y produce el desdoblamiento cuadrupolar ΔE_Q .

Interacción Monopolar Eléctrica; Corrimiento Isomérico

La interacción monopolar eléctrica es la interacción electrostática de Coulomb entre la carga nuclear, la cual yace dentro de un volumen finito, y la carga electrónica dentro de la región nuclear, los electrones s tienen la propiedad de penetrar el núcleo y permanecer una fracción de su tiempo allí. Los electrones con momento angular diferente de cero (electrones p-, d-, f-) no presentan esta propiedad, a menos que se considere los efectos relativísticos, en cuyo caso los electrones $p_{1/2}$ pueden también permanecer una fracción muy pequeña de su tiempo dentro del núcleo.

Considerando el primer término de la Ec. (7), donde sustituimos $\int \rho_n(r) r^2 d\tau \equiv \langle r^2 \rangle Ze$ donde $\langle r^2 \rangle$ es el valor esperado del radio nuclear al cuadrado y $\int \rho_n(r) d\tau$ es la carga nuclear Ze , tenemos:

$$E_I = \frac{2}{3} \pi Z e^2 |\psi(0)|^2 \langle r^2 \rangle \equiv \delta E > 0 \quad (8)$$

que es la energía de interacción, mediante la cual los niveles de energía de un estado del átomo se corren respecto a su valor en el caso de núcleo puntual. Asignamos $\delta E \equiv E_I$ los cambios pequeños en energía ($\cong 10^{-8} \text{eV}$) debido al corrimiento isomérico. Como el volumen nuclear y por tanto $\langle r^2 \rangle$ es diferente en cada estado de excitación nuclear, el corrimiento electrostático δE será también diferente para cada estado nuclear.

En una transición nuclear que da lugar a la emisión de un rayo- γ entre los estados fundamental (E_0) y excitado (E_e) el cambio en energía de este rayo- γ será:

$$\Delta E = E_e - E_0 = (\delta E)_e - (\delta E)_0 = \frac{2}{3} \pi Z e^2 |\psi(0)|^2 \left[\langle r^2 \rangle_e - \langle r^2 \rangle_0 \right] \quad (9)$$

Debido a que se aplica cierta velocidad a la fuente o al absorbedor para modular la energía de la línea de emisión, en el arreglo experimental Mössbauer, para que la línea de emisión de rayo- γ entre en resonancia con la línea de absorción correspondiente, nunca se observa las cantidades $(\Delta E)_A$ y $(\Delta E)_F$ por separado, sólo se observa las diferencias del corrimiento electrostático entre la fuente y el absorbedor. Así cualquier diferencia (configuración electrónica, estructura, temperatura, presión, etc.) entre la fuente y el absorbedor influenciará la densidad electrónica en el núcleo. En tanto la expresión general que involucra la diferencia en el corrimiento electrostático generada entre el absorbedor y la fuente es:

$$\delta = (\Delta E)_A - (\Delta E)_F = \frac{2}{3} \pi Z e^2 \left[|\psi(0)|_A^2 - |\psi(0)|_F^2 \right] \left[\langle r^2 \rangle_e - \langle r^2 \rangle_0 \right] \quad (10)$$

δ es el denominado corrimiento isomérico con respecto a la fuente. Para el caso de ^{57}Fe : $\langle r^2 \rangle_e < \langle r^2 \rangle_0$

La figura 14 muestra una representación del corrimiento isomérico de los niveles de energía entre los átomos del emisor y absorbente. Los valores del corrimiento isomérico siempre se reportan con respecto a un material de referencia dado, ya que los espectros Mössbauer de un componente en particular medido con diferentes

fuentes (e.g., en la espectroscopia de Fe^{57} se usa una fuente de Co^{57} inmerso en una matriz de Pd, Pt, Cr, Cu, Rh, acero inoxidable) bajo las mismas condiciones mostraran diferentes corrimientos isoméricos.

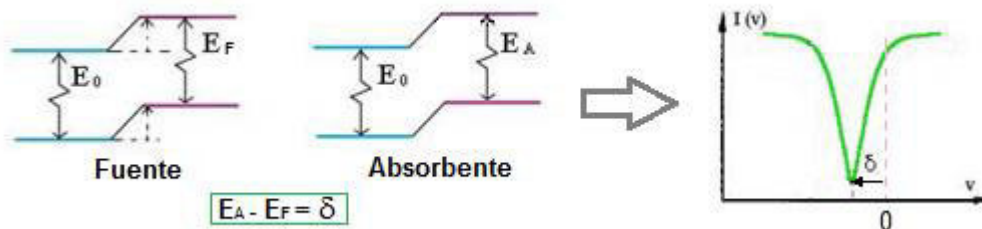


Figura 14. Representación del corrimiento isomérico de los niveles de energía en los átomos del emisor y absorbente.

Interacción Cuadrupolar Eléctrica. Desdoblamiento Cuadrupolar

En la sección anterior habíamos considerado la distribución de carga nuclear uniforme y esféricamente simétrica. En este caso el momento cuadrupolar nuclear es cero y el segundo término (7) el cual representa la interacción cuadrupolar eléctrica, E_Q , desaparece. E_Q también se hace cero si las cargas extranucleares (electrones y cargas de la red) están en arreglos de simetría cúbica. Por tal razón la interacción cuadrupolar eléctrica solo ocurre si hay un momento cuadrupolar nuclear observable y simultáneamente un gradiente de campo eléctrico en el núcleo diferente de cero.

Momento Cuadrupolar Nuclear

En muchos núcleos la distribución de carga nuclear no siempre presenta una simetría esférica; esta diferencia de simetría puede variar de un estado de excitación a otro, y puede calcularse de los efectos del momento cuadrupolar eléctrico eQ , el cual es un tensor (3x3) de segundo orden cuyos elementos están descritos como:

$$Q_{ij} = \int \rho_n(r)(x_i x_j - \delta_{ij} r^2) d\tau \quad (11)$$

ρ_n es la carga nuclear; x_i, x_j son las coordenadas cartesianas de \vec{r} ; δ_{ij} es el delta de Kronecker.

Eligiendo x_i, x_j como las coordenadas x, y, z en el sistema de eje principal para el cual los elementos no diagonales de Q_{ij} son cero, así como que el eje z sea el eje de orientación preferido (eje de cuantización), bajo estas condiciones definimos el momento cuadrupolar eléctrico Q como:

$$eQ = \int \rho_n(r)(3z^2 - r^2)d\tau = \int \rho_n(r)r^2(3\cos^2\theta - 1)d\tau \quad (12)$$

donde θ es el ángulo entre el eje de simetría y el vector \vec{r} ; $z = r.\cos\theta$

Q es positivo para un núcleo elongado, negativo para un núcleo achatado y cero para un núcleo con una distribución de carga de simetría esférica, $\rho_n(r)$. Los estados nucleares con número cuántico de espín $I = 0, \frac{1}{2}$ no poseen un momento cuadrupolar observable, solo los estados con $I > \frac{1}{2}$ y solo éstos pueden interactuar con un campo eléctrico no homogéneo, descrito por el gradiente de campo eléctrico (GCE) en el núcleo. Ya que Q es una constante para un núcleo Mössbauer dado, los cambios en la energía de interacción cuadrupolar observado en diferentes componentes, bajo las mismas condiciones experimentales, se deberá al GCE en el núcleo. Toda la información acerca de la estructura electrónica y molecular de un átomo Mössbauer, el cual puede ser extraído de la energía de interacción cuadrupolar calculada, se origina de los cambios en el GCE.

Gradiente de Campo Eléctrico

Una carga puntual q a una distancia $r = (x^2+y^2+z^2)^{1/2}$ desde el núcleo (ubicado en el origen del sistema de coordenadas) puede causar un potencial $V(r) = q/r$ en el núcleo.

El campo eléctrico \vec{E} producido en el núcleo es el gradiente negativo del potencial, $-\vec{\nabla}V$, y el gradiente del campo eléctrico está dado por:

$$GCE = \vec{\nabla}\vec{E} = -\vec{\nabla}\vec{\nabla}V = - \begin{bmatrix} V_{xx} & V_{xy} & V_{xz} \\ V_{yx} & V_{yy} & V_{yz} \\ V_{zx} & V_{zy} & V_{zz} \end{bmatrix} \quad (13)$$

donde

$$V_{ij} = \frac{\partial^2 V}{\partial i \partial j} = q(3ij - r^2 \delta_{ij})r^{-5}, (i, j = x, y, z) \quad (14)$$

son las nueve componentes del tensor. Solo seis de estas componentes son independientes, debido a la forma simétrica del tensor, y de la ecuación de Laplace, el cual requiere que el GCE tenga un tensor con traza igual a cero, $\sum_i V_{ii} = 0$, $i = x, y, z$ puesto que la contribución de los electrones s está tomado en cuenta en el corrimiento isomérico.

En el sistema de ejes principales, los elementos no diagonales son cero. Eligiendo los ejes principales en el orden $|V_{zz}| \geq |V_{xx}| \geq |V_{yy}|$ se puede especificar el GCE mediante dos parámetros independientes V_{zz} (denotado como eq) y η (parámetro de asimetría definido como $\eta = \frac{V_{xx} - V_{yy}}{V_{zz}}$, $0 \leq |\eta| \leq 1$).

Se puede considerar dos casos que pueden contribuir al GCE total:

1. las cargas sobre los iones distantes que rodean al átomo Mössbauer en una simetría no cúbica, usualmente llamada contribución de la red.
2. la distribución electrónica anisotrópica de la capa de valencia del átomo Mössbauer, usualmente llamada contribución electrónica de valencia.

La contribución de la red, denotada como $(V_{zz})_{red}$ y el parámetro de asimetría η_{red} son calculables, siempre que las distancias r_i y los ángulos ϕ_i y θ_i de todos los iones contribuyentes con respecto al átomo Mössbauer sean conocidos del estudio de la estructura cristalina, y si las cargas q_i pueden ser asignadas a los iones.

Desdoblamiento cuadrupolar

La interacción entre el momento cuadrupolar eléctrico del núcleo y el GCE en el núcleo puede ser expresado por el hamiltoniano

$$\hat{H}_Q = \frac{eQV_{zz}}{4I(2I-1)} \left[\hat{I}_z^2 - \hat{I}^2 + \eta(\hat{I}_+^2 - \hat{I}_-^2)/2 \right] \quad (15)$$

I es el número cuántico del espín nuclear, \hat{I} es el operador del espín nuclear; $\hat{I}_{\pm} = \hat{I}_x \pm i\hat{I}_y$ son los operadores de corrimiento e \hat{I}_x , \hat{I}_y , \hat{I}_z son los componentes del operador \hat{I} .

Resolviendo la matriz de primer orden, se encuentra que los autovalores EQ del hamiltoniano \hat{H}_Q son

$$E_Q = \frac{eQV_{zz}}{4I(2I-1)} [3m_l^2 - I(I+1)] (1 + \eta^2/3)^{1/2} \quad (16)$$

donde $m_l = I, I-1, \dots, -I$ es el número cuántico magnético del estado nuclear.

La interacción cuadrupolar rompe parcialmente la degeneración de los estados nucleares. Como ejemplo citaremos el efecto de la interacción cuadrupolar eléctrica para ^{57}Fe en los estado $I=1/2$ e $I=3/2$ asociados a la transición de γ 14,413 keV (Figura 15). El estado fundamental $I=1/2$ no se desdobla debido a que no hay momento cuadrupolar en núcleos con $I=0, 1/2$. El estado excitado con $I=3/2$ se desdobla en dos subestados doblemente degenerados $|3/2, \pm 3/2\rangle$ y $|3/2, \pm 1/2\rangle$.

Usando la ecuación (16) para el caso de un GCE axialmente simétrico ($\eta=0$) calculamos la energía debido a la perturbación cuadrupolar eléctrica:

$$\text{para } I=3/2, m_l=\pm 3/2 \quad E_Q(\pm 3/2) = \frac{eQV_{zz}}{4}$$

$$\text{para } I=3/2, m_l=\pm 1/2 \quad E_Q(\pm 1/2) = \frac{-eQV_{zz}}{4}$$

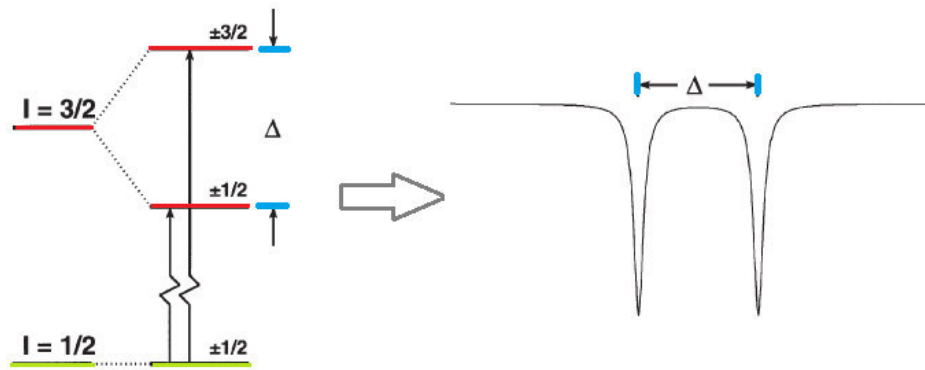


Figura 15. Representación del desdoblamiento de los niveles nucleares del ^{57}Fe debido a la interacción cuadrupolar y del doblete en el espectro de transmisión.

Interacción hiperfina magnética

Un núcleo con espín nuclear $I > 0$ posee un momento dipolar magnético $\vec{\mu}$ que puede interactuar con el campo magnético \vec{H} en el núcleo. El hamiltoniano de interacción está dado por:

$$H_m = -\vec{\mu} \cdot \vec{H} = -g_N \beta_N \vec{I} \cdot \vec{H} \quad (17)$$

donde g_N es el factor nuclear de Landé, $\beta_N = e\hbar/2Mc$ es el magnetón nuclear de Bohr. Usando la teoría de perturbaciones de primer orden, calculamos los autovalores del Hamiltoniano H_{mI}

$$E_m = -\vec{\mu} \cdot H_{mI} / I = -g_N \beta_N H_{mI} \quad (18)$$

donde m_I puede tener $2I+1$ valores.

Para el caso del ^{57}Fe (Figura 16) se tiene el nivel fundamental $I=1/2$ y excitado $I=3/2$. Por tanto, el campo magnético local desdobla estos niveles (efecto Zeeman nuclear) en los estados fundamentales: $|1/2, -1/2\rangle$, $|1/2, 1/2\rangle$ y en los estados excitados: $|3/2, -3/2\rangle$, $|3/2, -1/2\rangle$, $|3/2, 1/2\rangle$ y $|3/2, 3/2\rangle$. Las transiciones gamma correspondientes entre los subniveles de los estados excitado y fundamental están gobernadas por las reglas de selección para las transiciones dipolares magnéticas: $\Delta I = \pm 1$, $\Delta m = 0, \pm 1$.

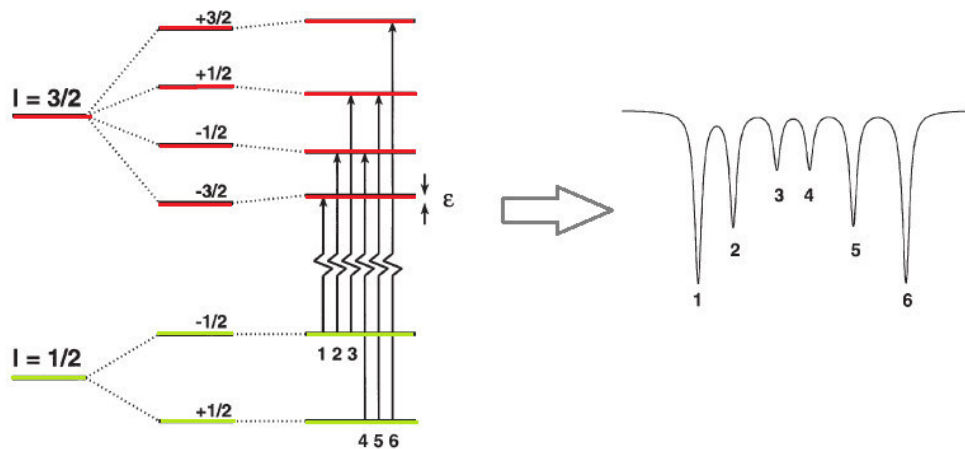


Figura 16. Representación del desdoblamiento magnético de los niveles nucleares del ^{57}Fe incluyendo el corrimiento cuadrupolar.

La manera como una estructura hiperfina se manifiesta es el espectro Mössbauer depende del estado magnético de la muestra ya sea paramagnética, ferromagnética, ferrimagnética ó antiferromagnética. Así también las interacciones eléctricas y magnética se pueden combinar dando lugar a un espectro complejo.

2.2.2 Procedimiento experimental

Para las medidas por EM se empleó un espectrómetro Mössbauer convencional de aceleración constante en la modalidad de transmisión con una fuente radiactiva de ^{57}Co en una matriz de Rh con una actividad de 25 mCi. Para realizar las mediciones se emplearon 250 mg de muestra. Se utilizó el Fe- α como material de calibración antes de cada medida. El ajuste de los espectros Mössbauer se realizó empleado el programa Normos de Brand en su versión de sitios.

2.3 Espectroscopia Infrarrojo con Transformada de Fourier

2.3.1 Principios básicos

La espectrofotometría de infrarrojo (IR) tiene su mayor aplicación en el campo de la química orgánica, aunque también es muy utilizada en la inorgánica.

En el estudio de los suelos, el uso de esta espectrofotometría se dirigió hacia el estudio de los silicatos, incluyendo los minerales de arcilla, y en forma más limitada al estudio de los componentes orgánicos. La complejidad propia de las moléculas orgánicas que se encuentran en el suelo, a menudo formando mezclas de polímeros heterogéneos, y las dificultades de segregación y purificación de los compuestos previos al análisis, son factores que dificultan la técnica.

El espectro IR resultante de la absorción de frecuencias definidas es una propiedad característica del mineral; proporciona información sobre la estructura y naturaleza de los constituyentes isomórficos; diferencia entre el agua molecular y los OH estructurales, grado de regularidad estructural, información sobre la familia de minerales a la cual un mineral conocido se relaciona y cambios en el espectro por efecto de modificación de las arcillas.

El espectro IR se puede dividir en tres regiones que en algunos casos es arbitraria.

Próximo	5000-4000 cm^{-1}
Mediano	4000-200 cm^{-1}
Lejano	< 200 cm^{-1}

Para el estudio de espectros de IR de aluminio silicatos, la región espectral de mayor interés es aquella entre 4000 a 200 cm^{-1} , en números de onda.

En los cristales, moléculas o agrupación de átomos (a cualquier temperatura), los átomos se encuentran en movimiento continuo: vibrando, rotando y moviéndose desde sus posiciones de equilibrio a frecuencias de 10¹² a 10¹⁴ ciclos/segundo (Hertz). Esta vibración molecular es del mismo rango de frecuencias que la radiación IR. En tales

movimientos se producen cambios pequeños de las distancias y ángulos internos, sin traslación del centro de gravedad y sin que se comunique movimiento de rotación a la molécula. Cada molécula tiene una frecuencia de vibración específica para estos movimientos y mientras que las moléculas idénticas tienen una estructura atómica igual y la misma clase de frecuencia, moléculas diferentes tienen frecuencias diferentes.

El análisis por IR corresponde a un análisis de absorción. Para ver esto suponemos que una muestra de espesor y masa conocida se irradia con un haz infrarrojo cuya longitud de onda está en el IR-medio. La luz transmitida se analiza mediante un espectrógrafo, determinándose la intensidad relativa de las radiaciones de longitud de onda variable que atraviesan la muestra. Como la energía correspondiente a los fotones infrarrojos es del mismo orden de magnitud de la energía necesaria para producir una deformación de los enlaces químicos que ligan los átomos entre sí, es que entre las frecuencias de vibración incidentes y la del vibrador se produce resonancia con la absorción de energía respectiva.

Para medir esta absorción de energía se necesitan tres dispositivos:

- a. Una fuente de emisión capaz de producir radiación IR, que pueda cubrir el ámbito espectral completo;
- b. Un monocromador que pueda descomponer la radiación emergente en sus longitudes de onda componentes y
- c. Un detector que mida la intensidad de la radiación antes y después de haber pasado por la muestra y sea capaz de accionar un sistema indicador-registrador.

2.3.2 Procedimiento experimental

Para analizar las muestras se hicieron pastillas de haluros alcalinos de la siguiente manera: la muestra sólida se mezcla con algún haluro alcalino que sea transparente a la radiación IR (KBr, KCl, KI, etc.) luego se coloca en un molde adecuado, se somete a presión intensa y se obtiene un disco transparente que se somete al análisis.

El equipo utilizado en nuestro análisis fue: Nicolet Protégé 460, provisto de un beamsplitter (divisor de haz) de CsI en el rango comprendido entre 4000 y 225 cm^{-1} , usando pastillas delgadas de KBr, para muestras sólidas.

2.4 Microscopia electrónica de barrido

2.4.1 Principios básicos

La función fundamental de un microscopio electrónico de barrido es producir imágenes de alta resolución y gran profundidad de campo. El sistema de análisis por energías dispersivas de rayos X (EDX) puede identificar los elementos existentes en las áreas de observación. Su funcionamiento se basa en la incidencia de un haz de electrones sobre la muestra a investigar que provoca la emisión, entre otras señales, de electrones secundarios y rayos X característicos. Los primeros, por su sensibilidad topográfica y alta resolución espacial, dan lugar a la formación de imágenes microscópicas, mientras que los rayos X proporcionan información sobre la composición elemental de la muestra. Como componentes principales, cabe citar la cámara de vacío en la que se introduce la muestra, el filamento que genera el haz de electrones, el detector de electrones secundarios y el detector de rayos X (EDX). Las muestras a estudiar pueden ser conductoras o no conductoras. Las primeras no requieren ningún tipo de preparación especial, mientras que las segundas deben recubrirse, para su observación, con una fina capa de oro o carbón, así también se pueden usar cintas conductoras en la muestra. El tamaño máximo de muestra que se puede introducir en la cámara es de 30 cm. El sistema de microanálisis EDX incorporado al microscopio detecta elementos de número atómico superior a 4, con una profundidad de análisis entre 1 y 2 μm .

2.4.2 Procedimiento experimental

Para los análisis se empleó un Microscopio Electrónico de Barrido marca TESCAN, modelo VEGA II XMU. Este equipo permite mostrar imágenes en 3D, ampliarlas hasta 8192 x 8192 píxeles, con una calidad de 16-bits. También cuenta con 3 detectores uno de electrones secundarios (SE), de retrodispersión de electrones (BSE) y de rayos X (EDX) marca Bruker AXS, modelo Quantax X-Flash 5010 con un barrido desde el Be ($Z=4$) hasta el U ($Z=92$).

2.5 Ensayo Inmuno-sorbente Ligado a Enzimas (ELISA)

2.5.1 Principios básicos

El término ELISA son siglas que derivan del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, 'Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas'. Este método ELISA se ha utilizado para determinar micotoxinas por más de quince años, siendo aprobado como método oficial por la AOAC (Assotiation of Official Analitical Chemist's) para triagem de aflatoxinas (Pereira et al., 2010). La tecnología se basa en la capacidad de un anticuerpo específico para distinguir la estructura tridimensional de una micotoxina determinada. Existen tres tipos de ensayos ELISA: directo, indirecto y sandwich; el tipo ELISA directo es el más empleado para el análisis de micotoxinas; en este caso, la superficie donde se va a producir la reacción es recubierta por el anticuerpo anti-micotoxina y al medio se añade un extracto de la muestra y una disolución de la micotoxina covalentemente unida a una enzima (normalmente peroxidasa de rábano). Cuantas más moléculas de micotoxinas existan en la muestra, menos moléculas conjugadas a peroxidasa se unirán al anticuerpo y el color desarrollado por la acción de la peroxidasa sobre el sustrato que posteriormente se añade será inferior

Actualmente, la mayoría de los kits de prueba disponibles comercialmente de ELISA para las micotoxinas están trabajando en la fase de la cinética de la unión antígeno-anticuerpo, lo que reduce el tiempo de incubación a minutos (Amado, M. 2002). Aunque la reducción en el tiempo de incubación puede conllevar a una cierta pérdida de la sensibilidad del ensayo, la técnica puede proporcionar resultados exactos y reproducibles. Una descripción general del principio del ELISA directo competitivo se muestra en la Figura 17.

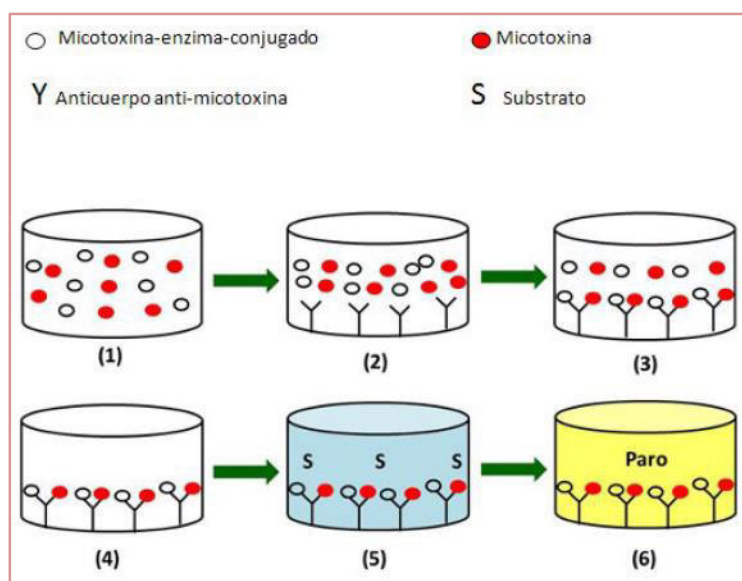


Figura 17. Representación del análisis de micotoxinas por ELISA.

A continuación se da una descripción estándar sobre el proceso de evaluación de micotoxinas en muestras diversas. Se extrae la micotoxina de una muestra con algún disolvente generalmente metanol al 70 %, se muele la matriz y se pesan 5 gramos de ésta y se colocan con 25 mL de disolución extractora; se agita vigorosamente durante 5 min y se filtra con papel filtro Whatman # 1; del filtrado se diluye con agua en proporción 1:1. Se extrae una porción del extracto de la muestra y una porción de la micotoxina enzima conjugada se mezcla y después se añaden a los pocillos de microtitulación recubiertas de anticuerpos. Se le deja competir a la micotoxina con la micotoxina-conjugada por los sitios de unión de los anticuerpos. Después se realiza un lavado y se añade el sustrato de la enzima, y se desarrolla un color azul. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de micotoxina en la muestra o el estándar. Posteriormente, se añade una solución de paro, añadida para detener la reacción enzimática. La intensidad del color de la solución en los pocillos de microtitulación se mide ópticamente usando un lector de ELISA con un filtro de absorbancia de 450 nm. Las densidades ópticas (DO) de las muestras se comparan con la DO de los estándares para realizar el cálculo correspondiente a cada micotoxina y determinar su concentración de manera cuantitativa. Los resultados de los kits de ensayo de ELISA se ven favorecidos como ensayos de alto rendimiento con bajos requisitos de volumen de la muestra, bajos costos y a menudo sin realizar prepurificaciones, en comparación con métodos convencionales tales como la

cromatografía de capa delgada (CCD) y la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) (Zengh et al.,2006).

Finalmente se debe considerar que el test ELISA puede generar falsos positivos o negativos, ya sea debido a su sensibilidad para con los compuestos de la matriz que se desea o, a veces, por una "deficiencia" en la especificidad de los anticuerpos; por ello se hace necesaria la confirmación por otra técnica de análisis.

CAPITULO 3

RESULTADOS EXPERIMENTALES

3.1 Resultados de los análisis de difracción de rayos X

Los resultados de los análisis por DRX corresponden a las muestras IC, HU y EU sin y con tratamiento ácido a diferentes concentraciones de 2 N y 8 N, con 2 horas de tratamiento y a pH3.

En los resultados del análisis de identificación para las muestras sin tratamiento, se observa que las tres muestras (Figura 18) están compuestas mayoritariamente por la fase de arcilla montmorillonita y en menor proporción por cuarzo y cristobalita.

Cabe mencionar que el pico de reflexión correspondiente al plano (001) en una arcilla esmectita nos proporciona dos informaciones importantes. Su posición permite calcular la distancia interplanar de la arcilla. Esta distancia revela en forma indirecta la presencia de especies que forman complejos entre las capas tetraédricas de la arcilla de láminas contiguas. Por otra parte, la altura y la agudeza de este pico de reflexión nos indican el nivel de cristalinidad de la arcilla.

Los difractogramas que se muestran en las Figuras 19, 20 y 21, corresponden al seguimiento realizado para cada una de las muestras bajo los tratamientos mencionados, mostrados en un rango 2 theta de 4° a 65° y de 4° a 10°. En estos últimos se pueden apreciar con más precisión la variación que sufre el pico de reflexión (001) de la montmorillonita.

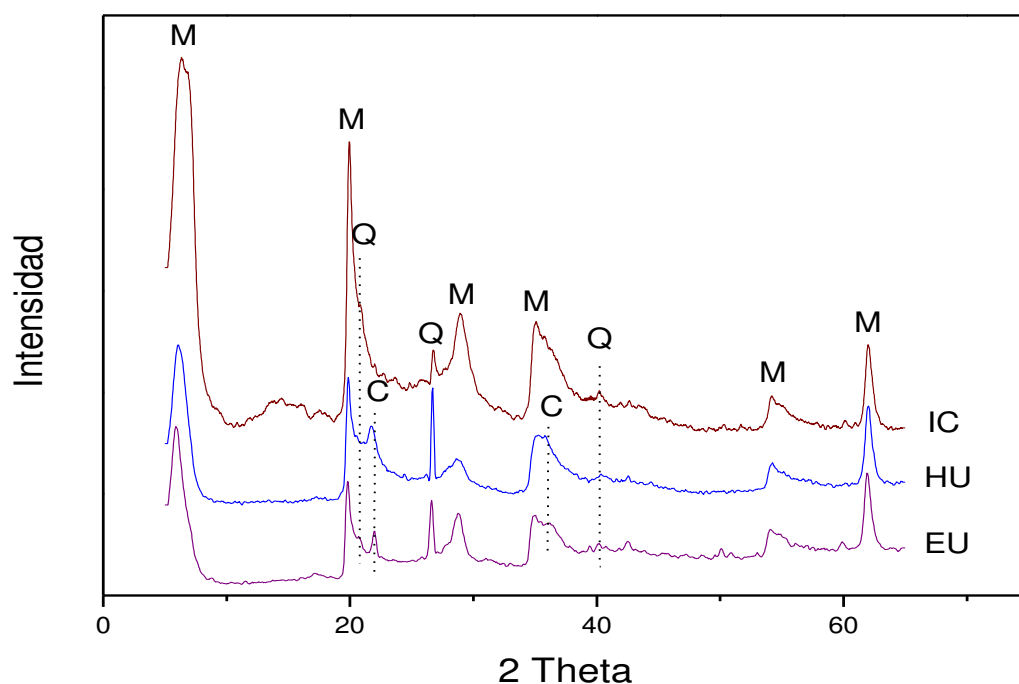


Figura 18. Difractogramas de las muestras IC, HU y EU sin modificación.

M: Montmorillonita, C: Cristobalita y Q: Cuarzo.

Según los resultados, para la muestra IC, se observa un incremento en la distancia interplanar del pico de reflexión (001), cuya posición yace en 14.76 Å, 15.65 Å y 15.71 Å para la muestra sin tratamiento, a 2N y 8N respectivamente. De manera similar se observa el mismo comportamiento para la muestra HU, cuya posición del pico se encuentra en 14.47 Å, 15.76 Å y 15.82 Å. A diferencia de la muestra IC y HU, en la muestra EU se observa una reducción en la distancia interplanar del pico de reflexión (001), cuyas posiciones angulares se encuentran en 14.84 Å, 13.38 Å y 12.65 Å para la muestra sin tratamiento, a 2N y 8N respectivamente. Se observa que para todas las muestras la variación más significativa de la distancia interplanar se produce cuando éstas son sometidas al tratamiento ácido de 2N.

Por otro lado, se observa de modo general que la intensidad (altura) de los picos característicos de la montmorillonita tiende a ser menor a medida que se incrementa la concentración del tratamiento de la activación. Así en la arcilla Eu el porcentaje de disminución en la intensidad (tomando como referencia el pico de reflexión (001)), comparado con la arcilla sin modificación, disminuye a 87% y 85% para la arcilla con modificación a concentraciones de 2N y 8N respectivamente. Del mismo modo la intensidad en la arcilla IC disminuye a 25% y 17% a concentraciones de 2N y 8N

respectivamente. La arcilla HU presenta el mismo comportamiento cuya intensidad disminuye a 92% y 68% a concentraciones de 2N y 8N respectivamente.

Respecto al ancho de pico a media altura (FWHM) la arcilla IC presenta un notable incremento siendo 1.4° , 1.9° y 2.1° , para el pico de reflexión (001), de la muestra sin modificación, para la arcilla con modificación a concentración de 2N y 8N respectivamente. El FWHM de la muestra HU es casi invariable bajo el proceso de modificación química. La arcilla EU presenta un incremento de 1.3° a 2.3° para la muestra sin tratamiento y con modificación a concentración 2N respectivamente y a 8N el FWHM disminuye a 1.8° . Este comportamiento indica que la muestra IC presenta una mayor disolución de su estructura comparada a las arcillas HU y EU, mediante el proceso de modificación química.

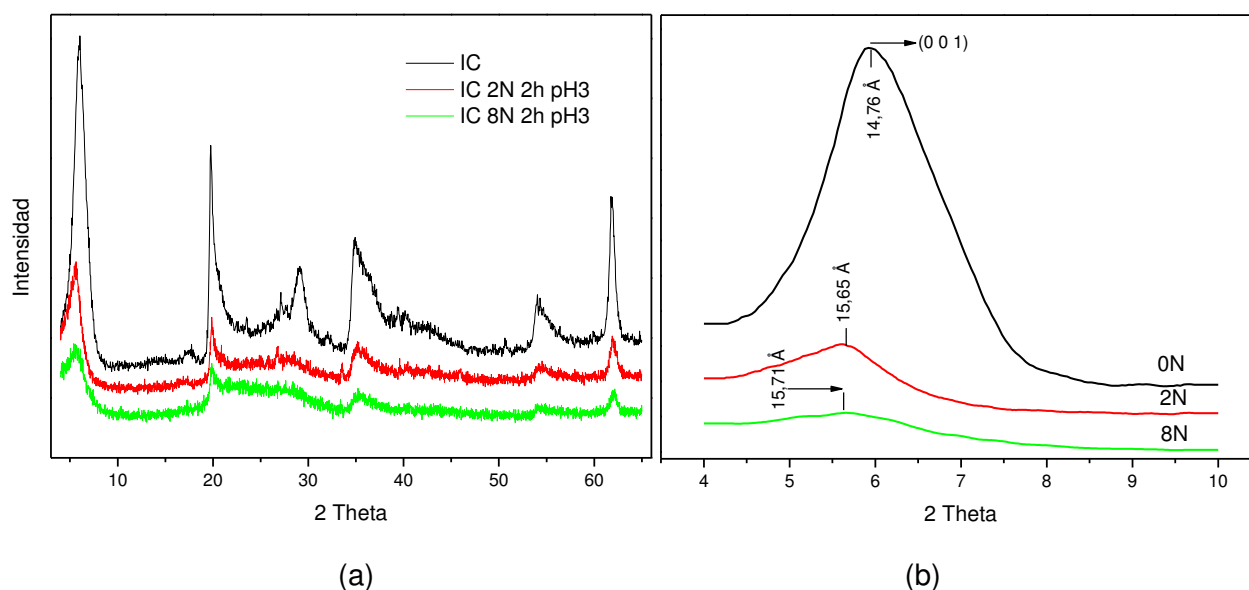


Figura 19. Difractogramas comparativos de la muestra IC con tratamientos ácidos. (a) difractogramas en rango completo, (b) difractogramas ampliados de 4° a 10° (2 theta).

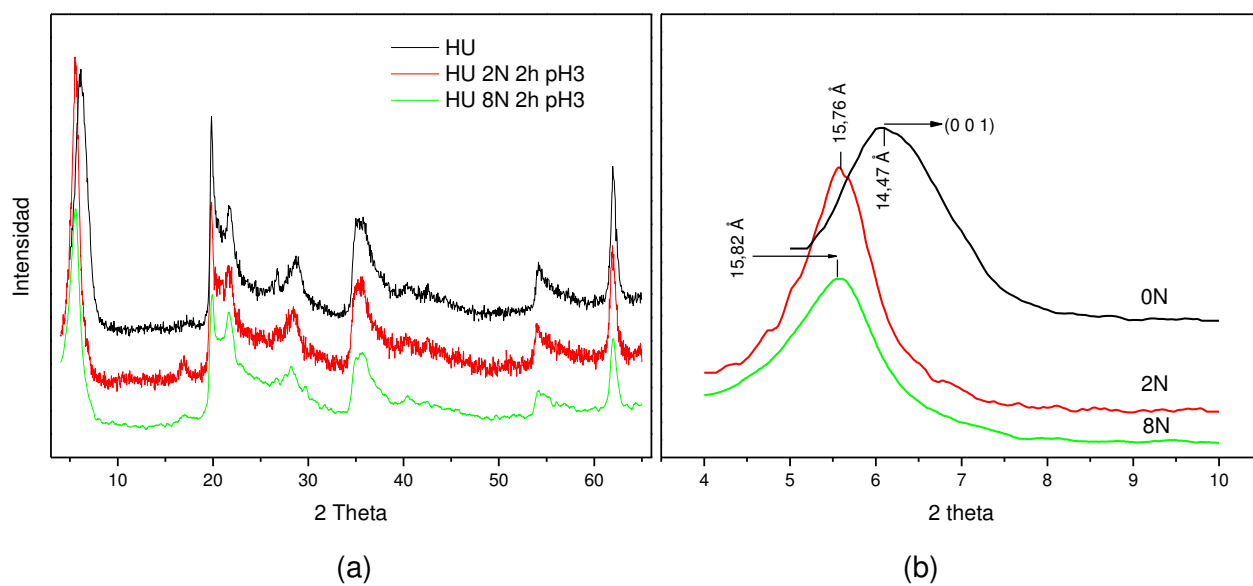


Figura 20. Difractogramas comparativos de la muestra HU con tratamientos ácidos. (a) difractogramas en rango completo, (b) difractogramas ampliados de 4° a 10° (2 theta).

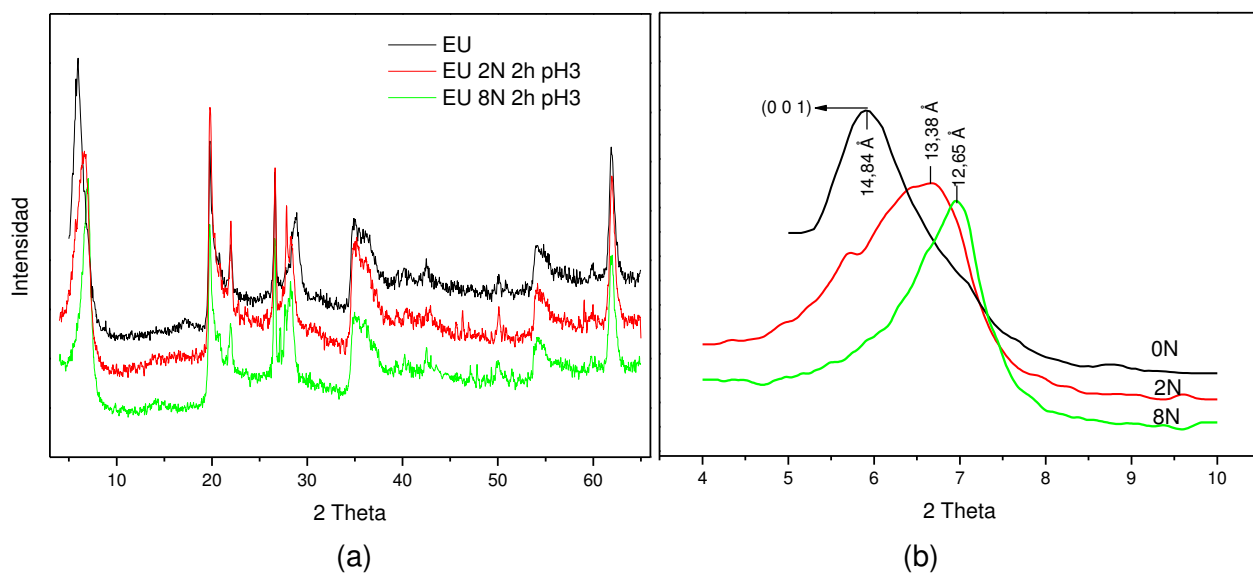


Figura 21. Difractogramas comparativos de la muestra EU con tratamientos ácidos. (a) difractogramas en rango completo, (b) difractogramas ampliados de 4° a 10° (2 theta).

3.2 Resultados de los análisis por espectroscopia Mössbauer

Los resultados de los análisis por EM corresponden a las muestras IC, HU y EU sin y con tratamiento ácido a diferentes concentraciones 2 N, 4 N y 8 N indistintamente con 2 horas de tratamiento y a pH3. Todas las muestras fueron medidas a temperatura ambiente (TA).

Las Tablas 5 – 7, muestran los parámetros que identifican las ocupaciones del Fe en sus dos estados de valencia. De las tres muestras la muestra IC es la de menor contenido de Fe, presenta un sitio de Fe^{3+} y otro de Fe^{2+} . Su seguimiento en el tratamiento ácido a 8N muestra una disminución del área de absorción resonante con respecto a la muestra sin tratamiento, sin embargo mantiene los dos sitios iniciales, cuyos parámetros hiperfinos son muy próximos a los iniciales.

La muestra HU presenta tres sitios de hierros: dos de Fe^{3+} y uno de Fe^{2+} . De manera similar a la muestra IC, HU muestra una disminución del área de absorción resonante cuando es sometida a tratamiento ácido, preserva el sitio $\text{Fe}^{3+}(1)$; sin embargo, los otros sitios de Fe ($\text{Fe}^{3+}(2)$ y Fe^{2+}) se ven afectados quedando en su lugar un solo sitio de Fe^{2+} con parámetros hiperfinos distintos a los iniciales.

La muestra EU es la que mayor contenido de Fe posee, por esta razón se realizó dos etapas adicionales intermedias de tratamiento ácido 2N y 4N.

El ajuste de la muestra sin tratamiento contiene seis sitios: tres de Fe^{3+} y tres de Fe^{2+} . El seguimiento de las etapas de tratamiento ácido muestra la disolución total del sitio $\text{Fe}^{3+}(3)$ y la disolución parcial de los sitios de Fe^{2+} a partir del tratamiento a 2N. El sitio de $\text{Fe}^{3+}(1)$ y $\text{Fe}^{3+}(2)$ se mantiene en todas las etapas del tratamiento; asimismo sus áreas se ven incrementadas a costa de la reducción del área del sitio de Fe^{2+} , lo que está relacionado con la oxidación parcial del sitio de Fe^{2+} (Ver Figura 28). El área de absorción resonante varía drásticamente a partir de la etapa de tratamiento a 2N, para las concentraciones de 4N y 8N la variación es pequeña. El porcentaje de disolución de Fe total, tomando como referencia el área total, es de 16% con respecto a la muestra sin y con tratamiento de modificación ácida a 8 N.

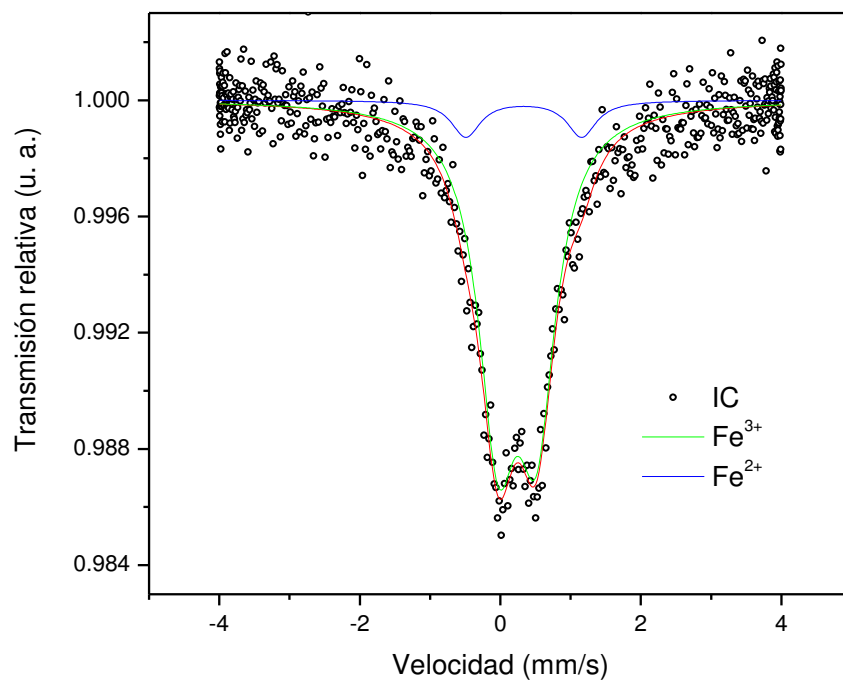


Figura 22. Espectro Mössbauer de la muestra IC sin activación ácida.

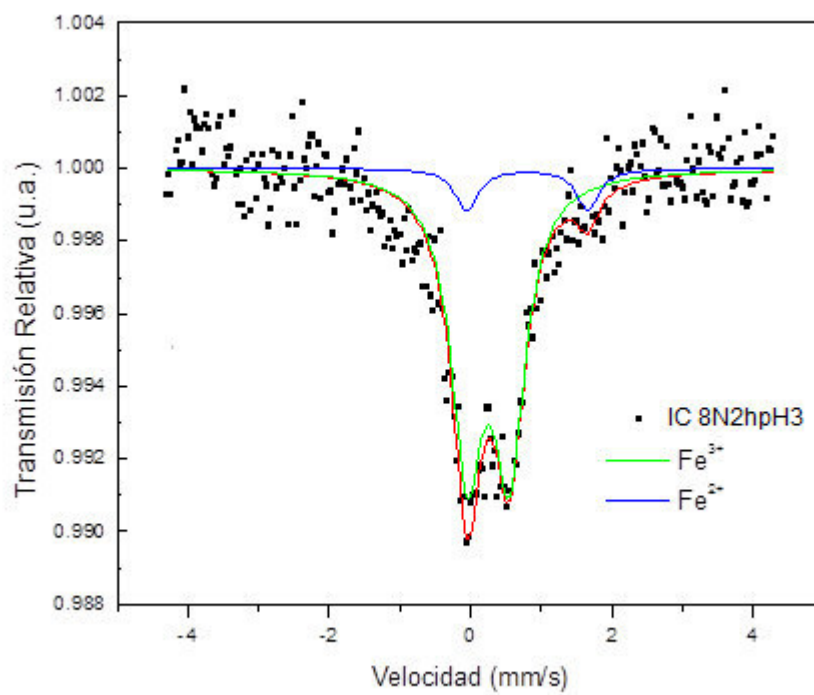


Figura 23. Espectro Mössbauer de la muestra IC con activación ácida a 8N 2h pH3.

Tabla 5. Parámetros hiperfinos de la muestra IC con y sin activación ácida a TA.

Muestra	Sitio	δ (mm/s)	ΔE_Q (mm/s)	Area (mm/s)	Área (%)
IC	Fe^{3+}	0,239	0,551	0,0216	91,615
	Fe^{2+}	0,332	1,648	0,0019	8,285
IC 8N 2h pH3	Fe^{3+}	0,251	0,599	0,0152	90,209
	Fe^{2+}	0,805	1,716	0,0016	9,791

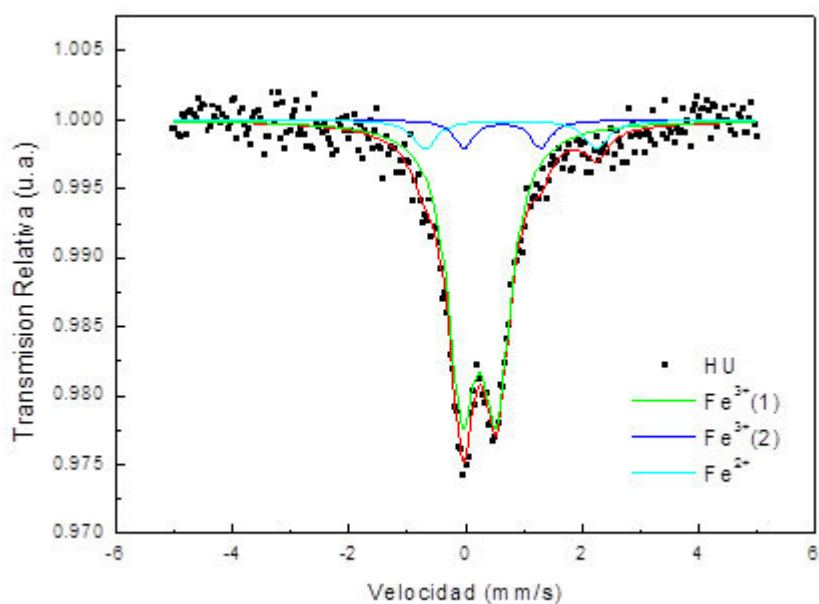


Figura 24. Espectro Mössbauer de la muestra HU sin activación ácida.

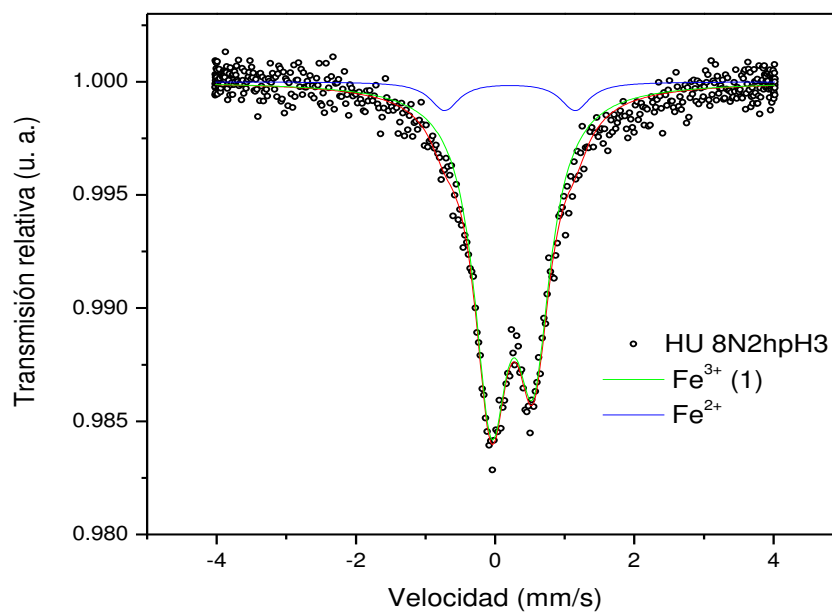


Figura 25. Espectro Mössbauer de la muestra HU con activación ácida a 8N 2h pH3.

Tabla 6. Parámetros hiperfinos para la muestra HU con y sin activación ácida a TA.

Muestra	Sitio	δ (mm/s)	ΔE_Q (mm/s)	Area (mm/s)	Área (%)
HU	Fe ³⁺ (1)	0,24	0,6	0,0358	85,3
	Fe ³⁺ (2)	0,64	1,31	0,0027	6,4
	Fe ²⁺	0,77	2,94	0,0035	8,3
HU 8N 2h pH3	Fe ³⁺ (1)	0,246	0,61	0,023	92,16
	Fe ²⁺	0,21	1,88	0.002	7,84

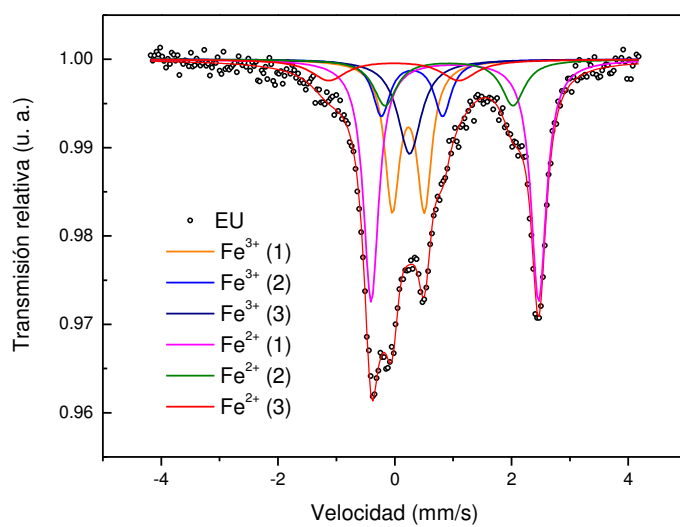


Figura 26. Espectro Mössbauer de la muestra EU sin activación ácida.

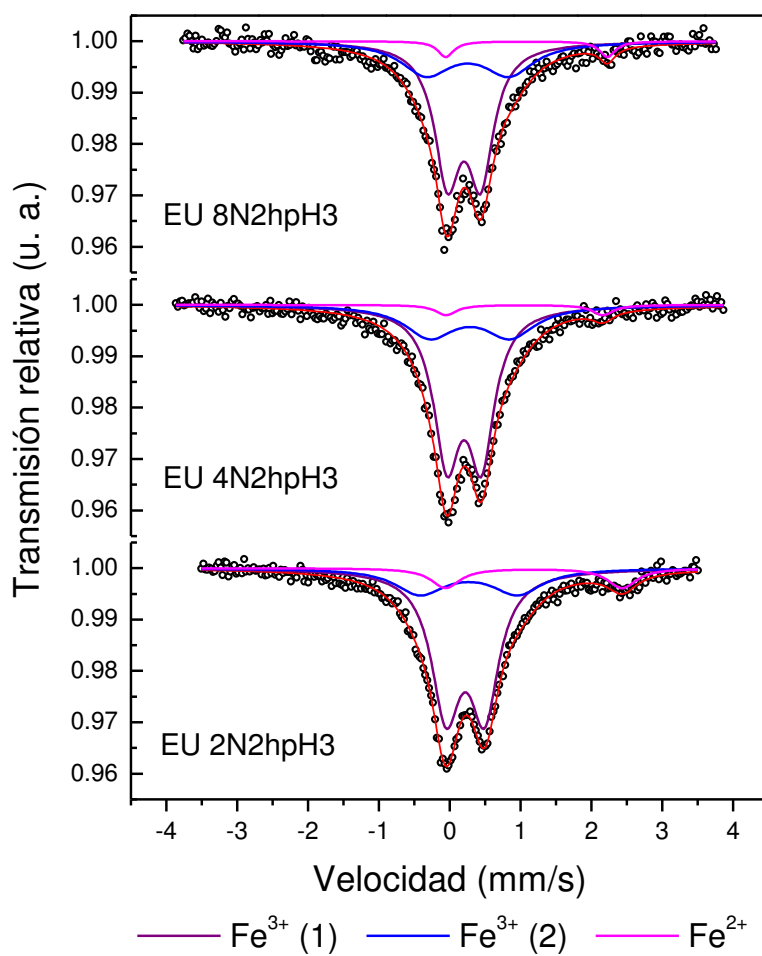


Figura 27. Secuencia de espectros Mössbauer de la muestra EU a diferentes concentraciones de activación ácida.

Tabla 7. Parámetros hiperfinos para la muestra EU con y sin activación ácida a TA.

Muestra	Sitio	δ (mm/s)	ΔE_Q (mm/s)	Area (mm/s)	Area (%)
EU	Fe ³⁺ (1)	0.342	0.550	0.0156	21.94
	Fe ³⁺ (2)	0.405	1.050	0.0070	9.85
	Fe ³⁺ (3)	0.363	0.000	0.0082	11.52
	Fe ²⁺ (1)	1.139	2.870	0.0271	38.12
	Fe ²⁺ (2)	1.039	2.193	0.0078	10.97
	Fe ²⁺ (3)	0.095	2.230	0.0054	7.60
	Area Total			0.0711	100.00
EU 2N 2h pH3.	Fe ³⁺ (1)	0.329	0.543	0.0414	68.35
	Fe ³⁺ (2)	0.376	1.374	0.0131	21.63
	Fe ²⁺	1.297	2.491	0.0061	10.02
	Area Total			0.0606	100.00
EU 4N 2h pH3.	Fe ³⁺ (1)	0.334	0.539	0.0447	68.71
	Fe ³⁺ (2)	0.417	1.263	0.0178	27.42
	Fe ²⁺	1.281	2.460	0.0025	3.87
	Area Total			0.0650	100.00
EU 8N 2h pH3.	Fe ³⁺ (1)	0.334	0.522	0.0385	64.14
	Fe ³⁺ (2)	0.390	1.294	0.0185	31.03
	Fe ²⁺	1.314	2.534	0.0029	4.83
	Area Total			0.0599	100.00

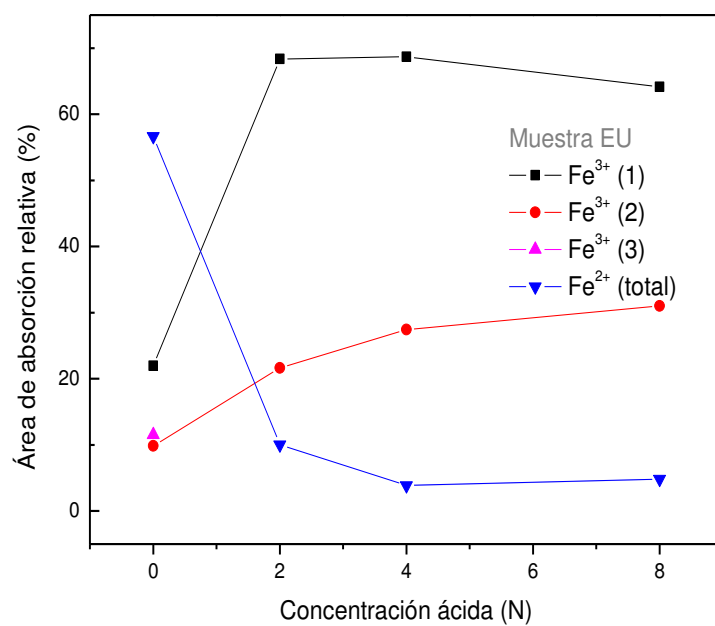


Figure 28. Curva representativa del área de absorción resonante relativa para el sitio Fe versus la concentración del tratamiento ácido para la muestra EU.

3.3 Resultados de los análisis por espectroscopia infrarroja

Los resultados de los análisis por IR corresponden a las muestras IC, HU y EU sin y con tratamiento ácido a diferentes concentraciones 2N y 8N con 2 horas de tratamiento y a pH3. Los resultados por espectroscopia infrarroja nos permiten deducir ciertos mecanismos inducidos por la modificación química en medio ácido sobre la estructura de la arcilla.

Los espectros se obtuvieron con un espectrómetro Nicolet Protege 460. Se barrieron rangos entre 4000 a 250 cm^{-1} , con un promedio de 32 barridos y una resolución de 4 cm^{-1} . Las muestras fueron preparadas como pastillas, disueltas en KBr y evaluadas por transmisión. En la Tabla 8 se indican los principales modos de vibración presentes en las muestras. Los modos de vibración están relacionados con la respectiva posición según los números de onda y enlace de las principales vibraciones moleculares presentes en las arcillas (Farmer 1968; 1974; Oinuma K. 1965).

En la Figura 29 se muestra un comparativo de los espectros de transmisión IR en el rango de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} para las tres muestras sin tratamiento ácido. En esta figura se observa que las tres arcillas poseen un comportamiento similar, excepto por la arcilla EU el cual posee un pico adicional en la posición 884 cm^{-1} correspondiente al enlace Al,Fe-OH. Cabe resaltar la presencia de las vibraciones en 625 cm^{-1} , 845 cm^{-1} y 915 cm^{-1} correspondiente a los enlaces (FeOH, AlOH) tetraedral, (Mg-Al-OH) octaedral y (Al₂-OH) octaedral respectivamente.

En las Figuras 30, 31 y 32 se observan el comparativo de cada una de las arcillas IC, HU y EU respectivamente, bajo el tratamiento ácido. En cada una de éstas gráficas se puede apreciar que las intensidades de las vibraciones en 845 cm^{-1} y 915 cm^{-1} decrecen cuando se incrementa la concentración del ácido, estas bandas pertenecen a los enlaces (OH-Mg,Al) y (OH-Al) respectivamente. De manera excepcional la intensidad de vibración del enlace AlFe-OH octaedral de la muestra EU se presenta casi inalterable con el proceso de modificación ácida. Asimismo, las intensidades de las vibraciones en 624, 795 y las que corresponden a los enlaces Si-O de los enlaces atómicos en las capas tetraedrales permanecen sin mayores cambios con el

tratamiento de modificación ácida. Por otro lado, la intensidad de la vibración del agua adsorbida e interlaminar disminuye con el tratamiento para los tres casos de arcillas.

Tabla 8: Resumen de las bandas características encontradas en las arcillas.

Número de Onda	Tipo de Vibración	Enlace
400-500/465	Deformación	Si-O-Si/Si-O
525	Deformación	Si-O-Al
624	Tensión	FeOH, AlOH tetraedral
795	Tensión	Si-O-Si
830-850	Deformación	Mg-Al-OH octaedral
884	Deformación	AlFeOH octaedral
918	Deformación	Al ₂ -OH octaedral
970-1070	Tensión	Si-O-Si
1030-1040/1090	Deformación	Si-O octaedral
1630-1640	Deformación	H ₂ O Adsorción
3440-3450	Deformación	H ₂ O Interlaminar
3625	Deformación	OH (Ads. H ₂ O)

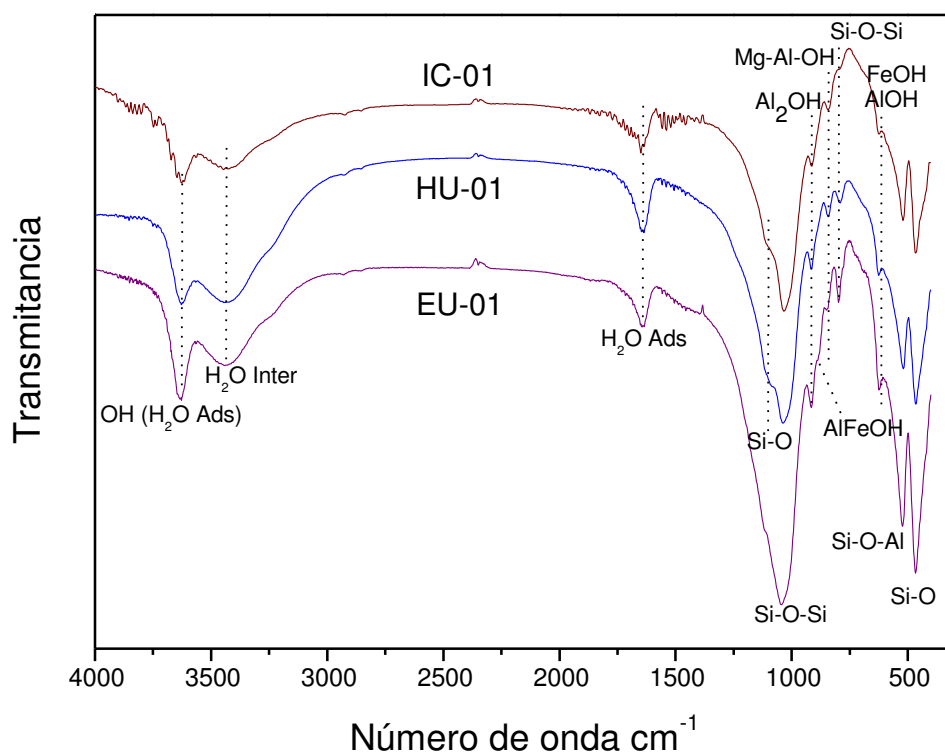


Figura 29. Comparativo de espectros IR de las muestras de arcilla IC, HU y EU sin tratamiento ácido.

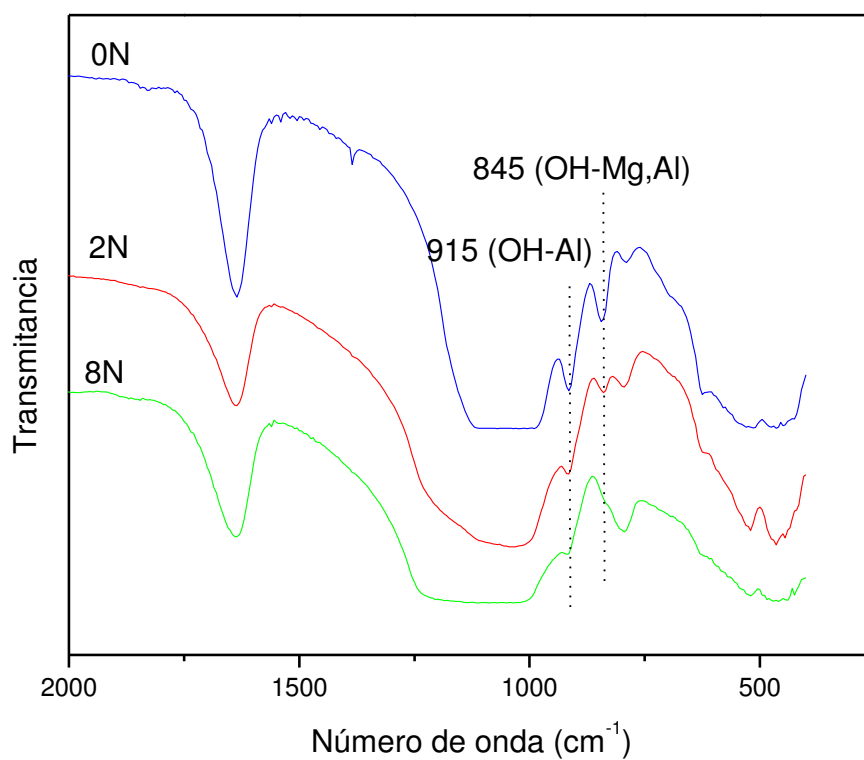


Figura 30. Espectros IR de la muestra de arcilla IC sin y con tratamiento ácido.

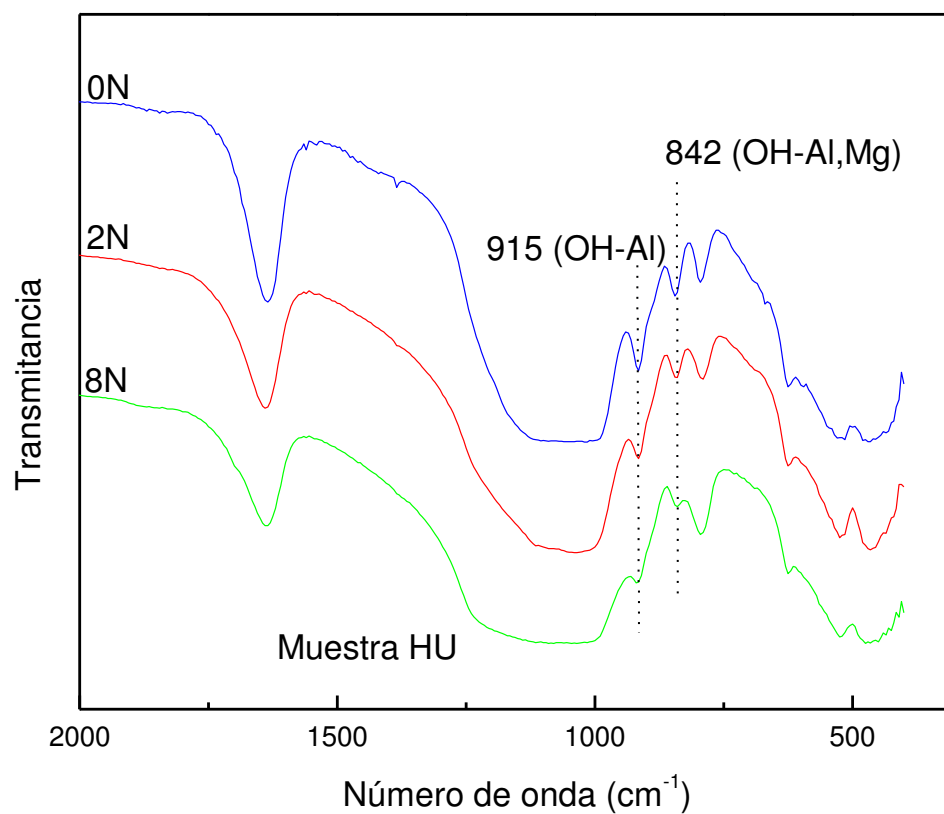


Figura 31. Espectros IR de la muestra de arcilla HU sin y con tratamiento ácido.

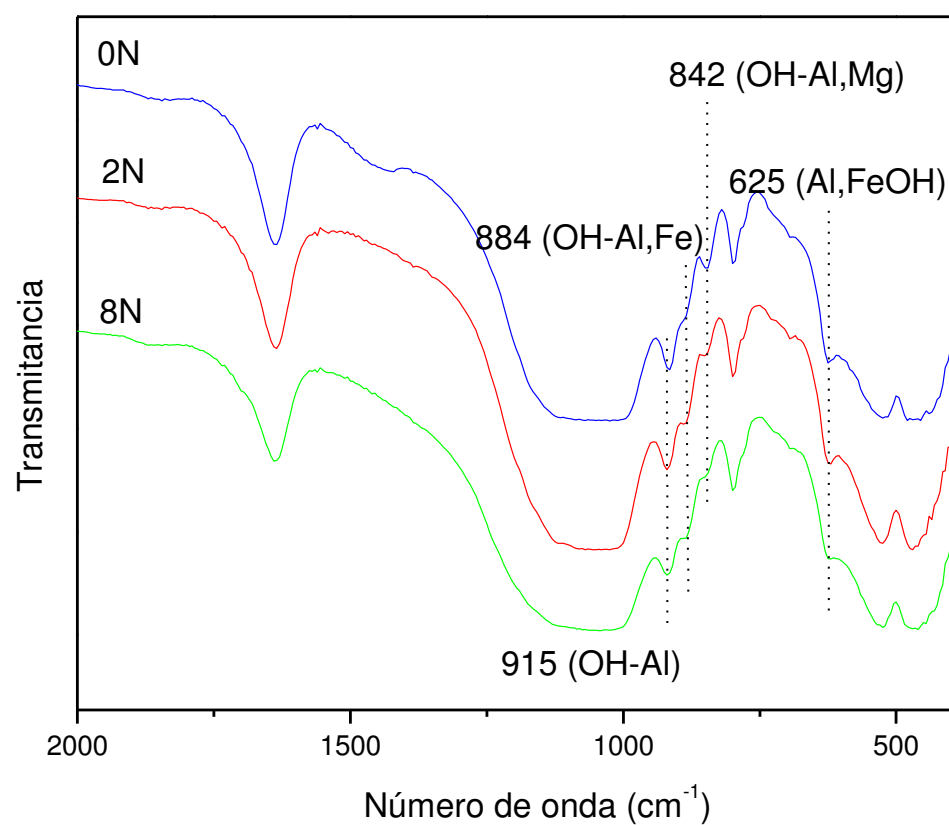


Figura 32. Espectros IR de la muestra de arcilla EU sin y con tratamiento ácido.

3.4 Resultados de los análisis de la microscopía electrónica de barrido.

Como parte de la caracterización de las muestras, se analizaron las muestras de arcillas sin modificación con la finalidad de observar su morfología y su contenido estequiométrico. De lo observado se destaca en las muestras una morfología laminar y de agregados, con tamaño de partícula variable $< 10 \mu\text{m}$ aproximadamente.

De los análisis por EDX, se observa cierta diferencia en el porcentaje en peso estequiométrico de Fe, Mg y Al entre las muestras HU, IC y EU. Así, en el análisis puntual de las muestras IC y HU (Figura 35 y 37) se observa un bajo contenido de Fe $\sim 0.3\%$ y Cl $\sim 0.6\%$, no se registra Ca, siendo el Mg y Na los cationes más predominantes $\sim 3.4\%$ y $\sim 4.5\%$ respectivamente. En la muestra EU (Figura 39) no se observa Cl pero si pequeñas cantidades de Mg, Na, Fe y Ca siendo 1.74% , 1.77% , 1.56 y 0.47% respectivamente.

A continuación, las imágenes y espectros de rayos X del análisis puntual de las arcillas IC, HU y EU.

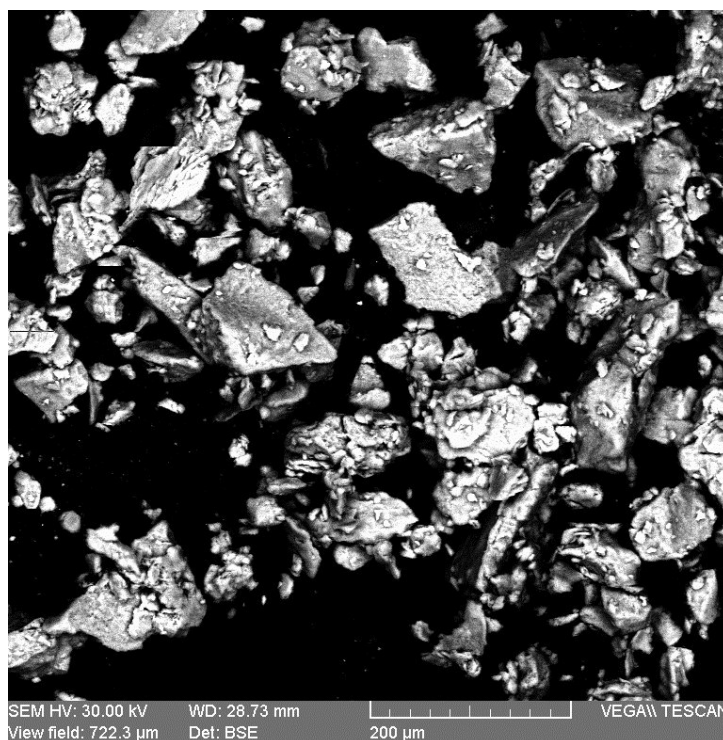


Figura 33. Vista panorámica de la muestra IC con escala de medición de $200 \mu\text{m}$.

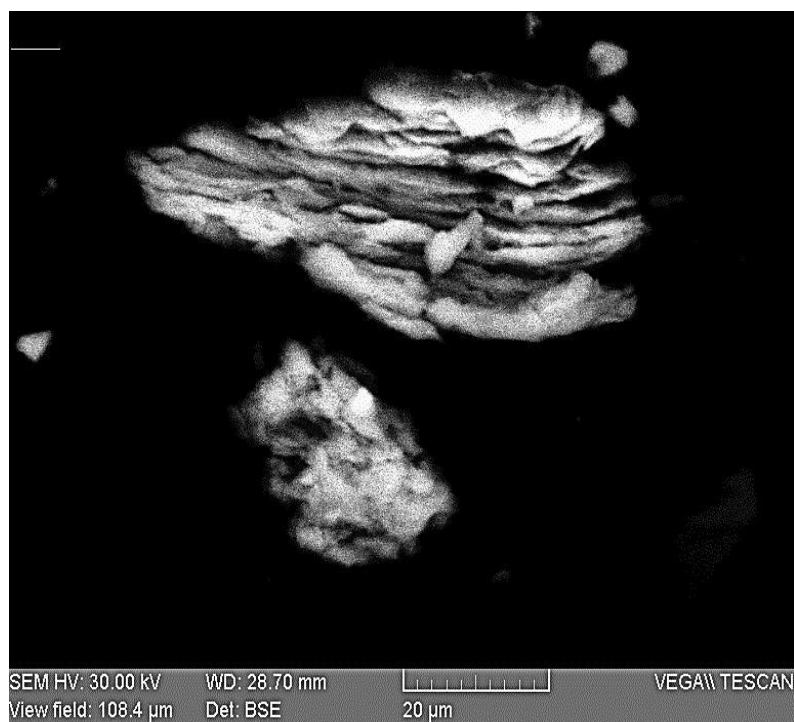


Figura 34. Imagen de morfología laminar en la muestra IC con escala de medición de 20 μm y aumento 1000X.

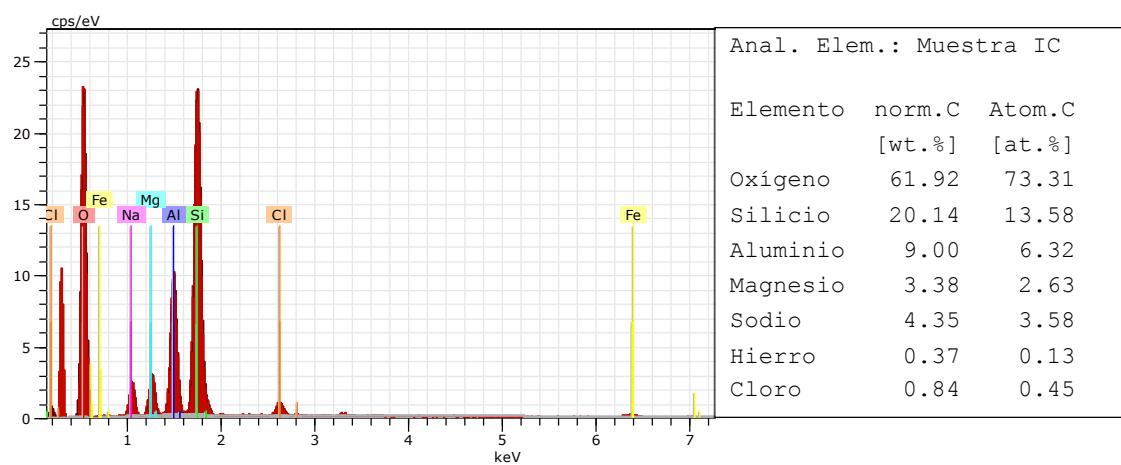


Figura 35. Espectro EDS y análisis elemental puntual de la muestra IC.

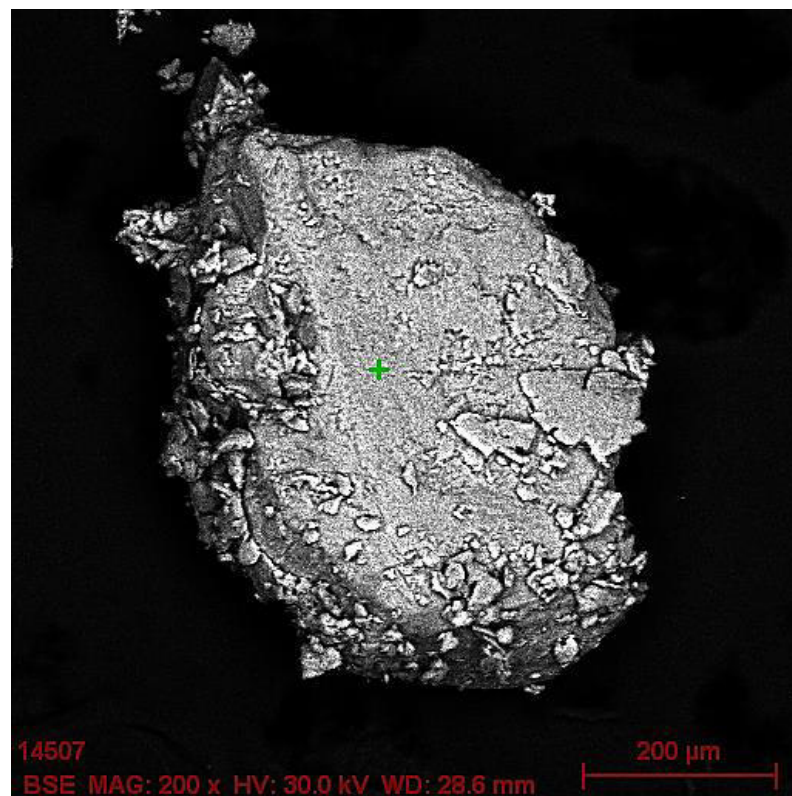


Figura 36. Imagen de morfología de agregado y laminar en la muestra HU con escala de medición de 200 μm y aumento 200X.

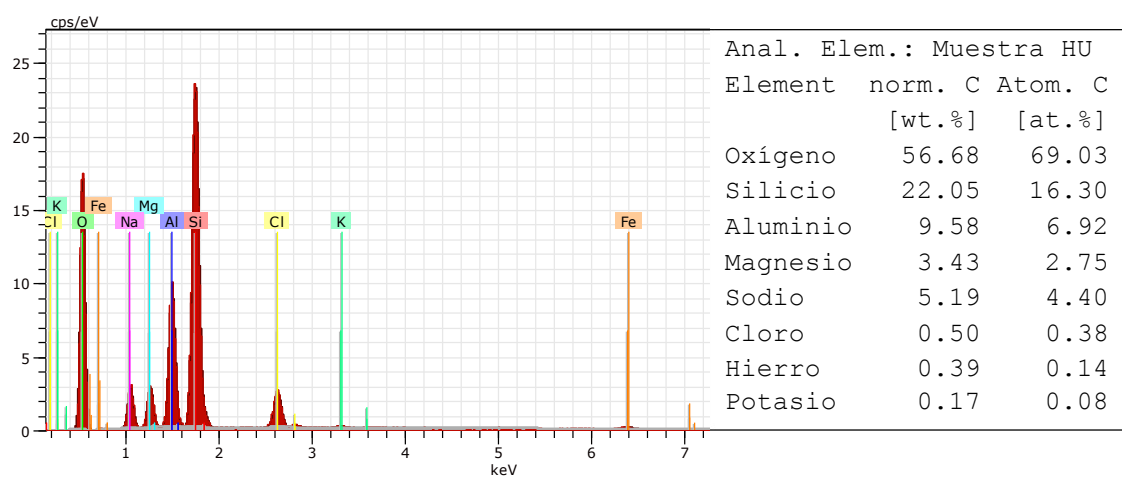


Figura 37. Espectro EDS y análisis elemental puntual de la muestra HU.

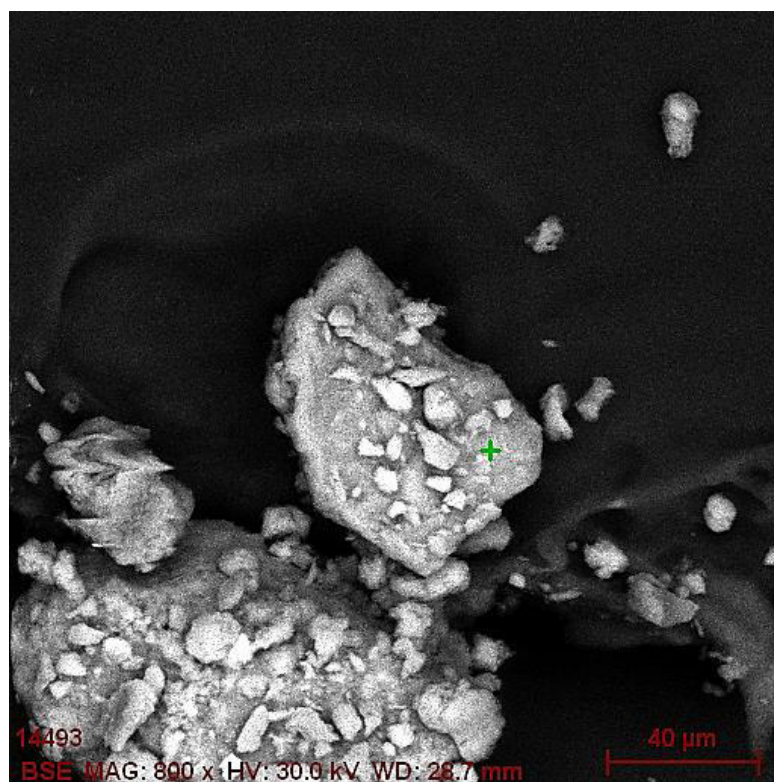


Figura 38. Imagen de morfología de agregados en la muestra EU con escala de medición de 40 μm aumento 800X.

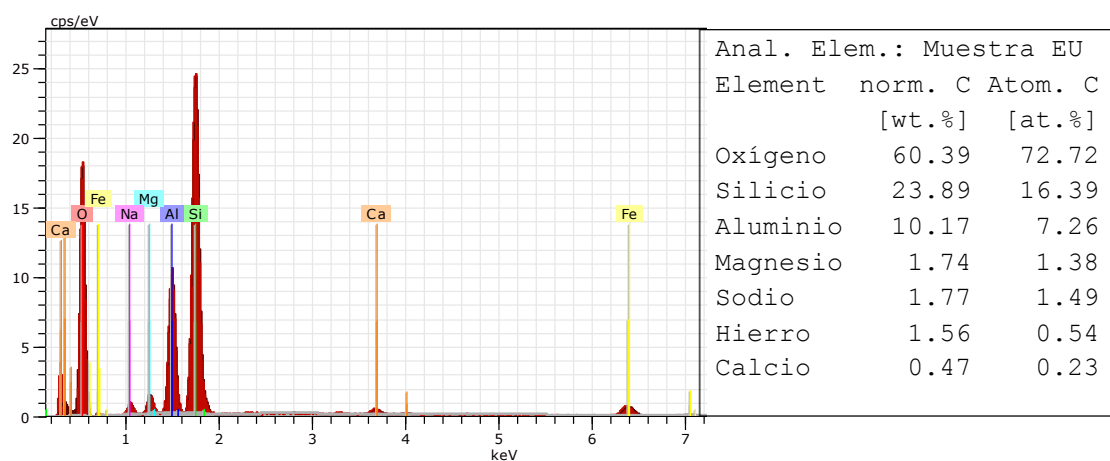


Figura 39. Espectro EDS y análisis elemental puntual de la muestra EU.

3.5 Resultados de los ensayos de absorción atómica.

En las Tablas 9 al 11 se presenta el contenido de los principales metales que contienen las muestras, siendo éstas Na, K, Mg, Ca, Fe y Al, indicando para cada metal el porcentaje (contenido en peso) antes y después de la activación en cada una de las arcillas.

En estos resultados se observa que la única arcilla con contenido de calcio es la HU. Asimismo, en términos generales se destaca una disolución gradual de los metales a medida que se intensifica el grado de activación.

En la muestra HU se observa la disminución casi total de Na que va desde 1.41% sin tratamiento a 0.05% con modificación ácida de 8N. El contenido de Mg y K se mantiene casi constante. El Fe disminuye en un 50% con la modificación y el Al en un 30% aproximadamente.

La muestra IC contiene mayor porcentaje de Na comparado con las demás arcillas. Sin embargo, la remoción de este elemento es total con el tratamiento de modificación ácida. El contenido de Mg y K disminuye en un 30% aproximadamente. Los elementos con mayor porcentaje de disminución son el Al en un 60% y el Fe en un 85% aproximadamente con el tratamiento de modificación ácida.

En la muestra EU el Na disminuye en un 50% con modificación ácida a 8N. El contenido de Mg y K se mantiene casi constante. El Fe disminuye en un 16% y el Al se mantiene casi inalterable con la modificación ácida.

En las tres arcillas se observa que el Na es el elemento más susceptible de removerse con el tratamiento ácido. Así también, la muestra IC es la arcilla que presenta mayor pérdida en el contenido de elementos metálicos por el proceso de activación. Por el contrario, la arcilla EU muestra un comportamiento más resistente al proceso de modificación ácida.

Tabla 9. Resultados de los ensayos de AA para la muestra HU

RESULTADOS EN PORCENTAJE (%)						
Muestra	Na	K	Mg	Ca	Fe	Al
HU	1,41	0,23	1,78	0,10	1,32	7,39
HU 2N2hpH3	0,96	0,20	1,63	0,09	0,89	6,58
HU 8N2hpH3	0,05	0,17	1,45	0,07	0,67	5,06

Tabla 10. Resultados de los ensayos de AA para la muestra IC

RESULTADOS EN PORCENTAJE (%)						
Muestra	Na	K	Mg	Ca	Fe	Al
IC	2,02	0,35	2,30	0,00	0,71	9,13
IC 2N2hpH3	1,32	0,31	2,10	0,00	0,24	7,44
IC 8N2hpH3	0,00	0,26	1,45	0,00	0,11	3,63

Tabla 11. Resultados de los ensayos de AA para la muestra EU

RESULTADOS EN PORCENTAJE (%)						
Muestra	Na	K	Mg	Ca	Fe	Al
EU	1,06	0,60	1,41	0,00	2,15	9,68
EU 2N2hpH3	0,86	0,53	1,28	0,00	2,06	9,61
EU 8N2hpH3	0,51	0,45	1,17	0,00	1,80	9,49

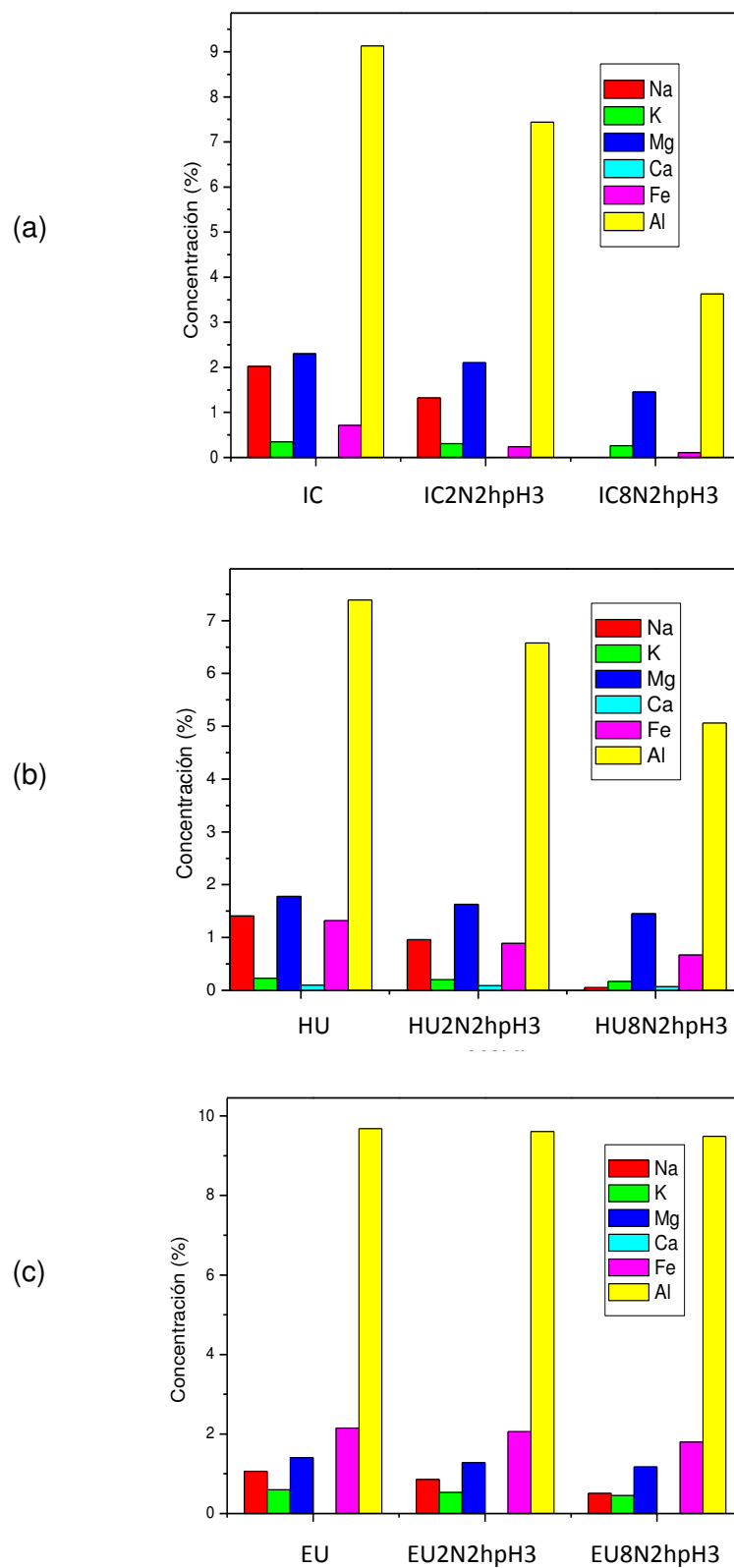


Figura 40. Gráficas comparativas de la evaluación química por AA de la muestra (a) arcilla IC, (b) arcilla HU y arcilla EU sin y con tratamiento de modificación ácida.

3.6 Resultados de la adsorción de aflatoxinas por el ensayo de ELISA.

El ensayo se realizó bajo dos etapas siguientes:

- A.** Ensayo ELISA, usando como sustratos controles de aflatoxinas, realizado en el laboratorio ALFABIOL - Perú.
- B.** Ensayo ELISA, usando como sustratos maíz naturalmente contaminado con aflatoxinas, realizado en el laboratorio ALETHEIAS - Argentina.

Se evaluaron las tres muestras de arcilla sin y con modificación ácida a concentraciones de 2 N y 8 N para un pH 3 y un tiempo de contacto de 2 h.

A. Los resultados de adsorción con estándar de Aflatoxinas se muestran en las Tablas 12 al 14. En este análisis de adsorción se evaluó las Aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2) a diferentes concentraciones de aflatoxinas: 5 ppb, 15 ppb y 50 ppb, dosis de inclusión de 1g arcilla / 1 L Aflatoxina. La longitud de onda óptica de medición fue $\lambda = 650 \text{ nm}$.

En este caso el proceso de adsorción comprende poner en contacto la muestra de arcilla con el líquido control de Aflatoxina, luego la arcilla es separada por agitación y centrifugado, y finalmente el análisis se realiza sobre el líquido sobrenadante.

Como se observa en la Figura 41, los resultados muestran mayoritariamente un incremento en la capacidad de adsorción para las diferentes concentraciones de Aflatoxinas luego que las muestras fueron activadas. Sin embargo, la muestra IC varia su adsorción dependiendo de la intensidad de la activación ácida.

Tabla 12. Resultados de la adsorción de Aflatoxinas en las muestras de arcilla HU sobre muestras control.

Muestra	C _i ,Af (ppb)	C _f ,Af (ppb)	Adsorción (%)
HU	5	0.2	96
HU 8N2hpH3	5	0	100
HU	15	4.4	70.67
HU 8N2hpH3	15	2.7	82

Tabla 13. Resultados de la adsorción de Aflatoxinas en las muestras de arcilla IC sobre muestras control.

Muestra	C _i ,Af (ppb)	C _f ,Af (ppb)	Adsorción (%)
IC	5	4	20
IC 2N2hpH3	5	3.5	30
IC 8N2hpH3	5	3.8	24
IC	15	1.4	90.67
IC 2N2hpH3	15	4.5	70
IC 8N2hpH3	15	6.7	55.34
IC	50	8.6	82.8
IC 8N2hpH3	50	9.6	80.8

Tabla 14. Resultados de la adsorción de Aflatoxinas en las muestras de arcilla EU sobre muestras control.

Muestra	C _i ,Af (ppb)	C _f ,Af (ppb)	Adsorción (%)
EU	5	0	100
EU	15	3	80
EU 8N2hpH3	15	2.2	85.34
EU	50	3.8	92.4
EU 8N2hpH3	50	0.6	98.8

C_i,Af : concentración inicial de Aflatoxina y C_f,Af : concentración final de Aflatoxina.

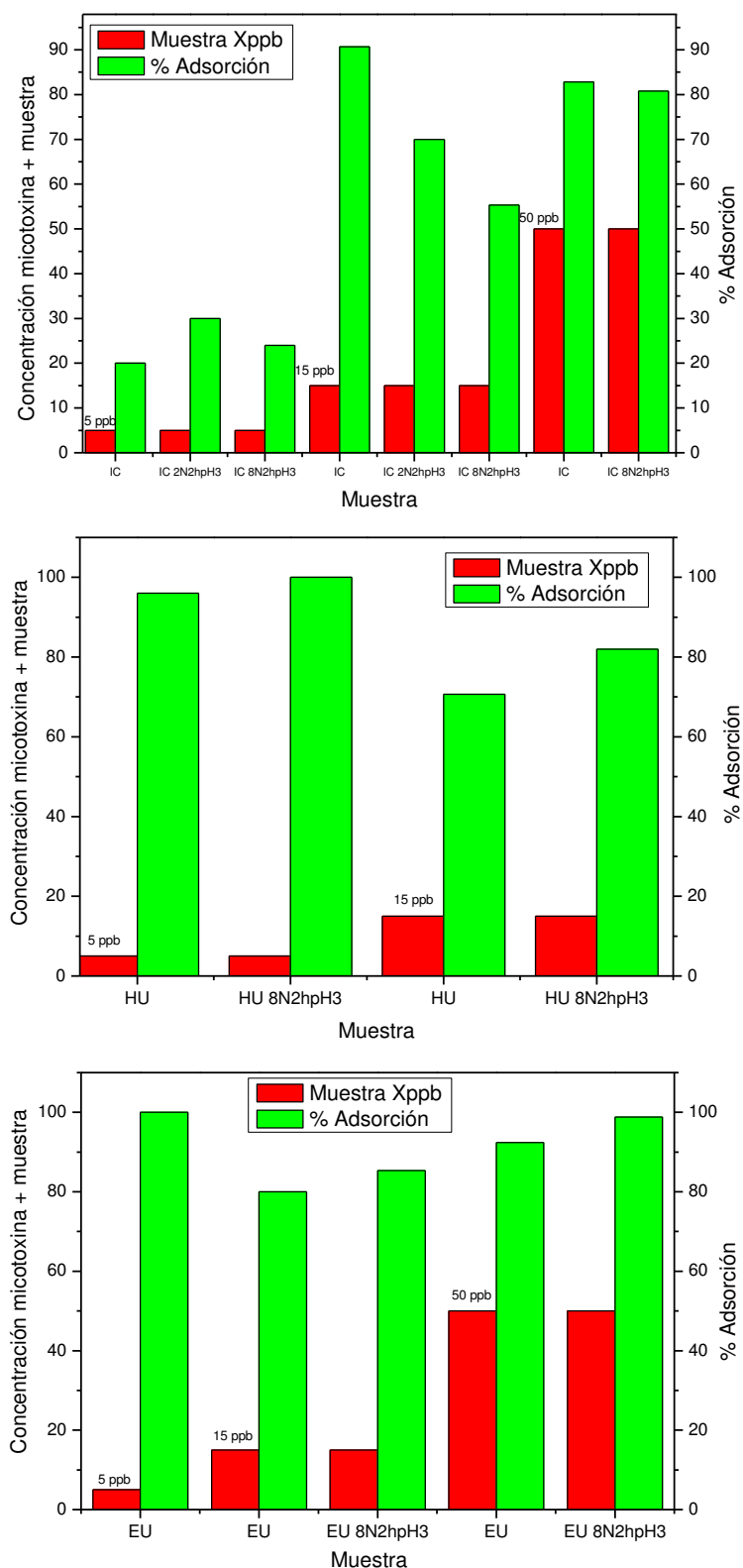


Figura 41. Gráficas comparativas de la evaluación de adsorción de Aflatoxinas para la muestra (arriba) arcilla IC, (centro) arcilla HU y (abajo) arcilla EU sobre las muestras control a diferentes concentraciones.

B. Los resultados de las pruebas de adsorción con maíz contaminado se muestran en la Tabla 15 y Figura 42. En este análisis de adsorción se evaluó las aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2) en maíz naturalmente contaminado con 80 ppb de Aflatoxinas.

La longitud de onda óptica de medición fue $\lambda = 650$ nm. En los resultados de la evaluación se indica los porcentajes de la adsorción, desorción y eficiencia de adsorción.

El proceso de desorción comprende la extracción de las aflatoxinas con methanol como solvente, separación de la “arcilla – solvente” por agitación y centrifugado, y finalmente la evaluación se realizó sobre del líquido sobrenadante. La eficiencia de adsorción evalúa la capacidad de retención de las aflatoxinas y es igual a la diferencia entre el porcentaje de adsorción y desorción.

Los resultados muestran un incremento en la capacidad de adsorción luego que las muestras fueron activadas. Sin embargo, la desorción varía significativamente en la arcilla EU a pesar de que ésta presenta una buena adsorción inicial. En consecuencia, la eficiencia de adsorción más alta se obtiene para las arcillas IC y HU. Además, es interesante notar que la arcilla IC es la que más incrementa su adsorción y su eficiencia de adsorción luego del proceso de modificación ácida.

Tabla 15. Resultados de adsorción de Aflatoxinas en maíz contaminado sobre las arcillas IC, HU y EU.

Muestras	Adsorción (%)	Desorción (%)	Eficiencia de Adsorción (%)
IC	30	20	10
IC 8N2hpH3	90	10	80
HU	88	10	78
HU 8N2hpH3	90	10	80
EU	70	57	13
EU 8N2hpH3	79	60	19

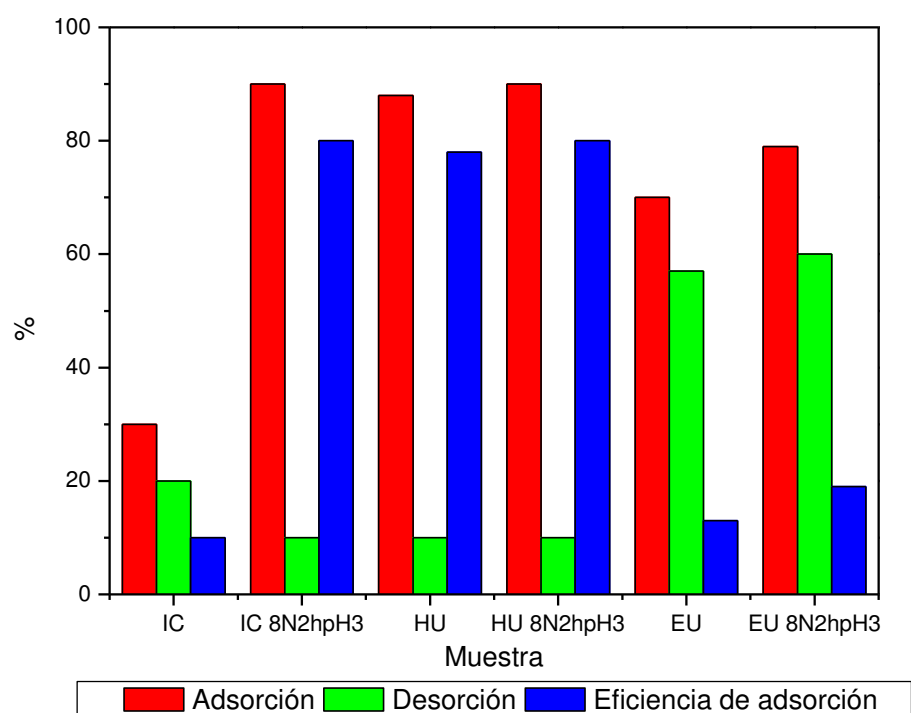


Figura 42. Gráfica comparativa de la evaluación de adsorción de Aflatoxinas para la muestra IC, HU y EU sobre maíz contaminado a concentración de 80 ppb.

CAPITULO 4

DISCUSION DE RESULTADOS

De los resultados obtenidos por DRX observamos el corrimiento en el pico de reflexión (001) para las muestras IC y HU, cuyo incremento de la distancia interlaminar varía entre 14.5 y 15.8 Å. Por el contrario, para la muestra EU se observa una reducción de 15.0 a 12.5 Å. Además se observa que, en general la intensidad (altura) de los picos tiende a ser menor después de la activación. Esta característica es más notable en el caso de la arcilla IC, lo cual indicaría una mayor disolución de la estructura comparada a las otras arcillas (Volzone et al., 1986). Esto último está corroborado con los análisis químicos por AA, en donde se indica una pérdida considerable del Al. Como se sabe este elemento constituye parte fundamental de los sitios octaédricos en la estructura de la arcilla.

Los resultados de la espectroscopia infrarroja nos permiten deducir ciertos mecanismos de la modificación en medio ácido sobre la estructura de la arcilla. Las tres arcillas presentan un comportamiento similar al tratamiento. Se observa que, para todas las arcillas las intensidades de las vibraciones en 845 cm^{-1} y 915 cm^{-1} decrecen cuando se incrementa la concentración del ácido. Estas bandas pertenecen a los enlaces (OH-Mg, Al) y (OH-Al) respectivamente. Esto nos indica la disminución del número de enlaces de este tipo. Según estudios en el proceso de modificación ácida, el protón del ácido desaloja a los metales en posiciones octaédricas, lo cual genera una pérdida de Al y Mg (corroborado por los resultados de AA en nuestro caso). En consecuencia, estos protones son los responsables de incrementar la capacidad de adsorción de la arcilla, especialmente por los enlaces tipo puente hidrógeno que se generan en el proceso de modificación (Stucki et al., 2002) (Komadel et al., 2006) (Solomon, 1968).

Por AA se observa de manera general que el proceso de modificación ácida promueve la remoción de elementos metálicos. Sin embargo, el grado de remoción de ciertos elementos no son iguales para todas las arcillas. Algunas son más susceptibles que otras como es el caso de la arcilla IC que ha mostrado inicialmente un alto contenido de Mg, Na y Al y menor contenido de Fe; la modificación ácida ha provocado una pérdida considerable de Na y Al principalmente. Esto indicaría que probablemente las condiciones de activación para este tipo de arcillas deben ser menos agresivas para garantizar la conservación de su estructura y capacidad de adsorción. Por el contrario, la muestra EU es la arcilla con mayor contenido de Fe y Al; además, pese a la activación su disminución metálica porcentual no es tan drástica lo que podría sugerir que este tipo de arcilla resiste ataques ácidos más agresivos.

Los análisis de EM muestran en general una ligera reducción en el área de absorción resonante del Fe^{2+} principalmente a medida que la activación ácida se incrementa. Solo para la muestra EU se realizó una mayor secuencia de activación debido al mayor contenido de Fe con respecto a las demás arcillas. La variación de las áreas de absorción resonante en función de la concentración de ácido; muestra las variaciones de las especies de Fe en la estructura de la arcilla. En ésta se observa cómo el sitio (1) de Fe^{3+} aumenta mientras el sitio (1,2) del Fe^{2+} disminuye, y el sitio (2) del Fe^{3+} permanece casi constante. Por tanto, se infiere que, durante el proceso de modificación ácida los sitios de Fe^{2+} están siendo oxidados a Fe^{3+} (Manceau, et al., 2000). Por otro lado, se ha verificado que hay una pérdida de 16% Fe total con el proceso de modificación; ésta pérdida está distribuida en un 10% de Fe^{2+} y un 6% de Fe^{3+} aproximadamente. Este 16% de pérdida con la modificación también es observado en los resultados por AA.

Los resultados obtenidos en la evaluación de adsorción de Aflatoxinas en estándares control muestra, en la mayoría de los casos, que las arcillas presentan buena capacidad de adsorción con o sin activación. Sin embargo, cuando la muestra es evaluada en maíz contaminado el comportamiento es algo diferente, siendo la muestra IC la que mayor incremento en la adsorción tuvo luego de ser activada, presentando un alto porcentaje de eficiencia de adsorción. Por otro lado, la muestra HU presenta un alto porcentaje de adsorción de Aflatoxinas con o sin modificación ácida y la muestra EU no presenta condiciones para retener las Aflatoxinas a pesar de tener un alto porcentaje de adsorción inicial.

CONCLUSIONES

- La aplicación de las tres técnicas de caracterización, difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja y Mössbauer, nos permiten apreciar los cambios estructurales y de composición que produce la modificación ácida en las arcillas. Este proceso puede mejorar en algunos casos la capacidad de adsorción, otra característica que puede influenciar el grado de modificación y adsorción es la presencia de Fe en la muestra.
- Según los resultados de la EM, las muestras EU, IC y HU presentan contenidos de Fe en los sitios estructurales como catión en los sitios octaédricos. En la muestra EU se observó mayor contenido de hierro, por lo que se le realizó un seguimiento a la activación notándose la oxidación de un gran porcentaje de los sitios de Fe^{2+} a Fe^{3+} . Así, se plantea que el proceso de modificación ácida promueve principalmente la oxidación del Fe^{2+} y luego la remoción de los cationes Fe y Al en los sitios octaédricos, por medio del protón del ácido que desaloja a los metales formando enlaces tipo puente hidrogeno.
- La modificación ácida realizada a las muestras ha provocado cambios estructurales sobre la montmorillonita dado por la disminución (EU) y aumento (IC y HU) de la distancia interplanar d (001). Esta diferencia se relaciona con la presencia de mayor o menor contenido de Fe, respectivamente.
- Los mayores cambios estructurales sobre la arcilla provocados por el proceso de modificación ácida, se dan bajo las condiciones de activación de 2N como concentración del ácido, un tiempo de 2h y pH 3. Concentraciones más altas provocan mayor disolución de la estructura de la arcilla; así como también, no se han observado mejoras en su capacidad de adsorción de toxinas.
- En los resultados obtenidos de la evaluación de adsorción en los estándares de Aflatoxinas se observa alta variabilidad, en la mayoría de los casos se tiene una buena capacidad de adsorción (> 50%) que se incrementa ligeramente cuando la muestra está activada.

- De los resultados obtenidos en la evaluación de adsorción de Aflatoxinas en maíz contaminado podemos apreciar que la arcilla comercial nacional HU mostró una buena capacidad de adsorción de aflatoxinas incluso sin activación. Con la activación, incrementó ligeramente su capacidad de adsorción, pero con un bajo porcentaje de desorción (10%), lo que equivale a una alta eficiencia de adsorción (80%). La arcilla EU presentó una alta capacidad de adsorción sin y con la activación entre 70-79%; sin embargo su eficiencia de adsorción es considerablemente baja entre 13-17%. La arcilla IC mostró un comportamiento marcadamente distinto a las dos anteriores. La activación produjo un notable incremento de su capacidad de adsorción de micotoxinas de 30% a 90%, y su eficiencia de adsorción incremento de 10 a 80%, respectivamente.

RECOMENDACIONES

Este trabajo demuestra la importancia que tiene la caracterización y el estudio de las arcillas, en torno a su composición y característica estructural, el cual debe ser considerado como una etapa previa a su uso como adsorbente de Aflatoxinas o de otros compuestos u elementos.

El proceso de modificación física química de las arcillas no siempre ayudaría a incrementar su capacidad como adsorbente; por tanto, la caracterización de diferentes canteras de arcillas en el Perú nos permitiría zonificar o ubicar geográficamente las arcillas más propicias o eficientes para la adsorción de Aflatoxinas u otros materiales.

Realizar pruebas y/o estudios sobre la eficiencia de éstas arcillas *in vivo* i.e., evaluar bajo condiciones controladas el consumo del maíz contaminado por toxinas en las aves y determinar los efectos positivos u adversos que éstos tendrían en el tiempo.

Extender las pruebas de eficiencia de éstas arcillas en la adsorción de Aflatoxinas en otros materiales de consumo humano directo como son los granos de sorgo, maní, soya, almendras, así como en las diferentes variedades de frutos secos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amado, M. (2002). Métodos inmunológicos na detecção e determinação de Aflatoxinas em alimentos: Vantagens e inconvenientes –Millenium N° 26.

Besoain, Eduardo. (1985). Mineralogía de arcillas de suelos. San José de Costa Rica: Instituto interamericano de cooperación para la agricultura.

Brindley, G.W. and Brown, G. Eds. (1980). Crystal Structures of Clays Minerals and their X-Ray Identification, Cap. 3 pp 197-242.

Caballero, J., Arbaiza, T., y Lucas, O. (2001). Niveles críticos de Aflatoxina en muestras de maíz para consumo animal en Lima Metropolitana. Rev. Inv. Vet. Perú, Vol. 12, N° 1.

Cardile, C. (1987). Structural Studies of Montmorillonites by ^{57}Fe Mössbauer Spectroscopy. Clay Minerals 22(4), 387-94

Dunin Borkowski, Estanislao. (1996). Minerales Industriales del Perú, Instituto Geológico Minero y Metalúrgico (INGEMET), Lima- Perú.

Escanilla Roa E., (2005). Investigación mecano cuántica de las estructuras cristalinas, propiedades espectroscópicas y reactividad de los filosilicatos 2:1 dioctaédricos, Tesis de doctorado, Universidad de Granada.

Farmer, V. (1974). The Infrared Spectra of Minerals, Mineralogical Society Monograph 4, Capítulo 15.

Farmer V. y Russell J. D., (1972) Infrared absorption spectrometry in clays studies, 15th Conference on Clay and Clay Minerals.

Farmer V. (1968). Infrared spectrometry in clays minerals studies, Clay Minerals 7, p. 373.

Gütlich P., Link R., y Trautwein A. (1978). "Mössbauer spectroscopy and transition metal chemistry", Springer Verlag. Berlin.

Huwing, A., Freimund, S., Kappeli, O., y Dutler H. (2001). Toxicology Letters, 122, 179-188.

Kannewischer I. (2006). Smectite clay adsorbents of aflatoxin B1 to amend animal feed, Thesis of Master of Science, Texas A&M University.

Komadel, P. (2003). Chemically modified smectites, Clay Minerals 38, 127-138.

Komadel, P. y Madejová, J. (2006). Acid Activation of Clay Minerals, handbook of clay - science, Chapter 7.1.

Lara, J. y Muñoz, J. (2001). Efecto del medio y la concentración en la evaluación "in vitro" de aluminosilicatos como adsorbentes de micotoxinas, Boletín informativo Laboratorio Nutek S. A.,

Lara, J., Pérez, R y Muñoz, J., (2001). Evaluación de métodos analíticos para la determinación de aflatoxinas, Boletín Informativo Laboratorio Nutek S. A.

Leeson, S. y Summers, J. (1997). Commercial Poultry Nutrition, Second Edition, University Books.

Manceau, A., Lanson, B., Drits, V., Chateigner, D., Gates, W., Wu, J., Huo, D. y Stucki, J. (2000). Oxidation-reduction mechanism of iron in dioctahedral smectites: I. Crystal chemistry of oxidized reference nontronites, American Mineralogist, Vol 85, pp 133-152.

Moore, D. y Reynolds, R. (1997). X-Ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Materials, 2da. Edición, Oxford University Press, p. 378.

Oinuma K. y Hayashi H. (1965). Infrared study of mixed layer clays minerals, The American mineralogist 50, 1213-1227.

Pereira, T. y Roncato, K. M. (2010). ELISA na detecção de aflatoxinas em alimentos - PUBVET, Londrina, V. 4, N. 42, Ed. 147, Art. 989.

Petrick, S. y Castillo, R. (2008). Método de Rietveld para el estudio de estructuras cristalinas. Laboratorio de Datación, Facultad de Ciencias, UNI.

Phillips, T., Sarr, A. y Grant, P. (1995). Selective chemisorption and detoxification of aflatoxin by phyllosilicate clay. *Natural Toxins* 3: 204-213.

Pineda Mejía, Flores Ortiz, Hernandez Portilla y Urzua Meza. (2012). Métodos de análisis de micotoxinas en granos y alimentos de uso pecuario, *Boletín de Avicultura*, México.

Ramos G. y Hernandez G. (1997). Adsorción in vitro de aflatoxinas mediante la utilización de compuestos adsorbentes: montmorillonita, *Rev. Iberoam. Micol.*, 14: 72-77.

Rancourt Denis G. (1998). Mössbauer spectroscopy in clay science, *Hyperfine Interactions*, 117, 3-38.

Solomon, D. H. (1968). Clay minerals as electron acceptors and/or electron donors in organic reactions, *Clay and Clay Minerals* Vol 16, pp 31-39.

Stucki, J. W., Lee, K., Zhang L. y Larson R. A. (2002). Effects of iron oxidation state on the surface and structural properties of smectites, *Pure Appl. Chem*, Vol. 74, No. 11, 2145-2158.

Urrego Novoa J. y Diaz G. (2006). Mecanismo de Toxicidad Rev. Aflatoxinas, Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia Vol 54 N°2.

Volzone, C., Porto Lopez, J. M., Pereira, E., (1986). Acid activation of smectitic material I. Structural Analysis, *Rev. Latinoamericana Ing. Quím. Apl*, 16, 205-215.

ANEXO

PUBLICACIONES:

Huaypar, Y., Bravo, J., Gutarra, A. y Gabriel, E. (2007). Study of the structural modifications in activated clays by Mössbauer spectroscopy and X-ray diffractometry. *Hyperfine Interact.* 175 pp 23-28.

Hyperfine Interact (2007) 175:23–28
DOI 10.1007/s10751-008-9583-2

Study of the structural modifications in activated clays by Mössbauer spectroscopy and X-ray diffractometry

Yezeña Huaypar · Jorge Bravo · Abel Gutarra ·
Erika Gabriel

Published online: 20 March 2008
© Springer Science + Business Media B.V. 2008

Abstract In this work we study the changes induced on the structure of a smectite clay by chemical acid activation with HCl using X-ray diffractometry (XRD) and transmission Mössbauer spectroscopy (TMS) techniques. By XRD we were able to determine the mineralogical composition of the clay samples and measure the changes in the interplanar distance associated to the structural modifications in the clays. We measured a reduction in the interplanar distance and reflection intensity as the acid concentration in the activation process increased. TMS allowed us identify and characterize the structural sites occupied by ferric and ferrous iron cations. In addition, we were able to monitor the effects caused by the chemical acid activation on the valence state of the iron cations that occupy these structural sites in the clay. For the treatment at low acid concentration, keeping time and temperature of activation constant, our results showed a strong effect on the ferrous and ferric iron sites, reducing and increasing their adsorption relative areas respectively.

Keywords Smectite · Chemical acid activation · X-ray diffractometry · Interplanar distance · Transmission Mössbauer spectroscopy

Huaypar, Y., Gabriel, E., Gutarra, A., Sun, R., Bravo, J. y Volzone, C. (2008). Evaluation of total aflatoxin adsorption capacity by modified clays. REVCUNI 12, (1) pp 47-52.

Revista de la Facultad de Ciencias de la UNI, REVCUNI 12 (1)(2008) 47-52

Evaluation of total aflatoxins adsorption capacity by modified clays

Yezeña Huaypar¹, Erika Gabriel², Abel Gutarra², Rosario Sun³, Jorge Bravo¹, Cristina Volzone⁴

¹Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Físicas, yhuaypar@yahoo.es,
jbravoc@unmsm.edu.pe, ²Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ciencias, gtuesta_karina@yahoo.es,
agutarra@uni.edu.pe, ³Pontificia Universidad Católica del Perú, Secc. Química, msun@pucp.edu.pe
⁴CETMIC, Gonnet – Argentina. volzcris@netverk.com.ar

Recibido el 06 de octubre del 2008; aceptado el 10 de noviembre del 2008

Aflatoxins adsorption on smectite clays is evaluated. B1, B2, G1 and G2 type aflatoxins were extracted from contaminated food and contacted with acid activated smectites. The mineralogical characterization of the clays was performed by XRD, IR-FT and MS. These techniques were used also for monitoring structural changes in the minerals associated to the activation treatment. The evaluation of the adsorption of aflatoxins by the clays was performed by means of the ELISA method; for this purpose a dose of 0,1% w/w clay/corn feed naturally contaminated with 80 ppb of aflatoxins was used. The results show that in some cases the modified samples have higher efficiency for adsorption than the natural untreated clays.

Keywords: Clays, adsorption, toxin.